

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

E.A.P. DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**“Determinación del daño genotóxico en
trabajadores expuestos a formaldehído de
tres laboratorios de anatomía patológica
de Lima Metropolitana”**

TESIS

**Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el
área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica**

AUTOR

Cesar Rivera Orcoapaza

ASESOR

Yesica Llimpe

Lima – Perú

2015

Dedicatoria:

- *A Dios, por la vida y las bendiciones que derrama día a día en mi vida.*
- *A mi abuelo, por ser mi padre y el ejemplo que guía mis pasos.*
- *A mi madre, por todo su amor incondicional y dedicación.*
- *A mi hermana, por ser mi fuente de inspiración constante.*

Agradecimientos:

- *Al Mg. Jaime Rosales, por todas las enseñanzas y el apoyo brindado en la realización de este trabajo.*
- *A la Mg. Yesica Llimpe, por su asesoramiento y consejos brindados durante este trabajo.*
- *Al Mg. Ricardo Rodríguez, por su amistad, enseñanzas y la preocupación puesta en que este trabajo se termine.*

ÍNDICE

I. RESUMEN	5
II. INTRODUCCIÓN	7
III. OBJETIVOS	34
IV. MÉTODOS	35
V. RESULTADOS	46
VI. DISCUSIÓN	70
VII. CONCLUSIONES	78
VIII. RECOMENDACIONES	80
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
X. ANEXOS	90

I. RESUMEN

Introducción: El formaldehído es un compuesto genotóxico, mutagénico y cancerígeno empleado copiosamente y rutinariamente en los laboratorios de anatomía patológica; los niveles de exposición reportados en los ambientes de trabajo frecuentemente superan los límites permisibles y las medidas de prevención son insuficientes, esto plantea una problemática en salud ocupacional. **Objetivos:** Determinar el daño genotóxico en trabajadores expuestos a formaldehído de tres laboratorios de anatomía patológica de Lima Metropolitana. **Diseño:** Estudio descriptivo transversal. **Lugar:** Laboratorios de anatomía patológica del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas y Morgue Central de Lima. **Participantes:** Trabajadores de salud de laboratorios de anatomía patológica expuestos a formaldehído. **Métodos:** Se evaluó el daño genotóxico local mediante test de micronúcleos y anormalidades nucleares en células epiteliales bucales y daño genotóxico sistémico mediante ensayo cometa en linfocitos de sangre capilar de 42 trabajadores expuestos a formaldehído y 38 trabajadores no expuestos. Adicionalmente se midió la concentración de formaldehído en aire de cada laboratorio mediante método espectrofotométrico con ácido cromotrópico y se comparó con el valor límite permisible. **Principales medidas de resultados:** Daño genotóxico local y sistémico y concentración de formaldehído en aire. **Resultados:** Se obtuvo una concentración media de 0.96 mg/m^3 de formaldehído en aire, superando el valor límite permisible (TLV-ceiling 0.37 mg/m^3). Se encontró que los trabajadores expuestos a formaldehído presentaron mayor frecuencia de micronúcleos, gemaciones y binucleaciones en comparación con el grupo de no expuestos ($p < 0.01$). No se encontró diferencias significativas en ninguno de los parámetros del ensayo cometa entre ambos grupos de estudio ($p > 0.05$). **Conclusiones:** Los trabajadores de laboratorios de anatomía patológica expuestos a formaldehído presentan daño genotóxico en el epitelio bucal. Estos resultados, junto con la presencia de altas concentraciones de formaldehído en el ambiente laboral y su naturaleza cancerígena, indican una situación de alto riesgo ocupacional, la cual debe ser atendida mediante la implementación de un programa de gestión de riesgos.

ABSTRACT

Introduction: Formaldehyde is a genotoxic, mutagenic and carcinogenic chemical heavy and routinely used in pathology laboratories, exposure levels reported in workplaces air often exceed the permissible limit and preventive measures are insufficient, which raise a problem in occupational health. **Objectives:** To evaluate occupational genotoxic damage and occupational exposure in anatomy pathology workers exposed to formaldehyde in three laboratories of Lima metropolitan area. **Design:** Cross sectional study. **Location:** Pathology laboratories of Guillermo Almenara Irigoyen National Hospital, National Institute of Neoplastic Diseases and Central Morgue of Lima. **Participants:** Health workers in pathology laboratories exposed to formaldehyde. **Methods:** Evaluation of local genotoxic effects was performed by application of micronucleus and nuclear abnormalities test in exfoliated epithelial cells from buccal mucosa and systemic genotoxic effect by cometa assay in capillary blood lymphocytes. The study was carried out in 42 workers exposed to formaldehyde and 38 unexposed workers. Additionally, exposure assessment was performed by applying spectrophotometric method with chromotropic acid for determination of formaldehyde in air and compared with permissible exposure limit. **Main outcome measures:** Local and systemic genotoxic damage and formaldehyde concentration in air. **Results:** The average formaldehyde in air concentration was 0.96 mg/m³, exceeding permissible exposure limit (TLV-ceiling 0.37 mg/m³). It was found that workers exposed to formaldehyde had increased micronucleous, nuclear buds and binucleations frequencies in buccal epithelium compared to unexposed group ($p < 0.01$). No significant differences were found in any of the comet assay parameters between study groups ($p > 0.05$). **Conclusions:** Workers in pathology laboratories exposed to formaldehyde show genotoxic damage in the buccal epithelium. These results, together with the presence of high formaldehyde concentrations in the workplace and its carcinogenic nature, point out high risk that must be prevented by implementing a comprehensive risk management program.

II. INTRODUCCIÓN

El formaldehído es un importante compuesto químico producido a gran escala a nivel mundial, es usado ampliamente en la producción de resinas, plásticos, maderas, textiles y particularmente como preservante de tejidos en los laboratorios de anatomía patológica, donde se adquiere en solución acuosa saturada al 37-40% y se utiliza diluido al 10% junto con sales tamponadas. Su uso dentro del laboratorio se da en forma copiosa, debido a las propiedades fisicoquímicas que posee para la fijación y conservación de tejidos; su uso rutinario, sumado a ciertas condiciones de trabajo, como la omisión de medidas de bioseguridad para la contención, falta de equipos de protección personal, carencia de sistemas de ventilación adecuada, volumen de uso y creciente demanda de muestras que necesitan estudio anatomopatológico, crean un escenario de alto riesgo de exposición a elevadas concentraciones ambientales, que muchas veces superan los límites de exposición profesional establecidos^{1,2}.

El formaldehído además es considerado un producto especialmente peligroso para la salud, ya que su acción después de exposiciones prolongadas no solo se limita a efectos externos, como la irritación de ojos, vías aéreas o la dermatitis alérgica, sino que puede llegar a interaccionar con el material genético de células somáticas o germinales, dañándolo; de manera que aquellas lesiones que se acumulan y/o no son reparadas correctamente, pueden originar una serie de trastornos de origen genético de largo desarrollo, como el cáncer^{3,4}.

Para evidenciar el daño producido al material genético, es necesario emplear biomarcadores de genotoxicidad local y sistémica en personas expuestas al agente nocivo; de manera que el estudio en trabajadores de laboratorios de anatomía patológica es un excelente modo de abordar el tema, ya que se trata de una población con alta y continua exposición; además que su estudio tiene gran relevancia en la identificación del potencial riesgo en salud ocupacional.

En este sentido, el test de micronúcleos y ensayo cometa representan biomarcadores de gran utilidad en la evaluación del efecto genotóxico, debido a la gran sensibilidad para detectar daños en el ADN, la rapidez con que se realizan y la ventaja de evaluar cualquier población celular. El test de micronúcleos en células epiteliales bucales está siendo muy empleado para investigar genotoxicidad local, ya que estas células son los primeros sitios de contacto después de la exposición a agentes aerotransportados y parecen ser las áreas anatómicas más sensibles en la evaluación del daño; por otro lado, el ensayo cometa es un biomarcador de alta sensibilidad, utilizado para medir pequeños daños al ADN en cualquier tipo de célula, principalmente en linfocitos.

A la fecha, no se han encontrado reportes de estudios realizados en el Perú que hayan evaluado los niveles de exposición ocupacional a formaldehído, ni el daño genotóxico inducido por éste; por lo tanto, resulta necesario realizar estudios de monitoreo ambiental y biológico, a fin de describir el panorama de riesgo a la salud de los trabajadores de laboratorios de anatomía patológica y que a su vez permita establecer y reforzar medidas de control y protección necesarias en los centros de salud del país.

2.1. ANTECEDENTES

Las primeras sospechas sobre si la exposición a formaldehído produciría daño al material genético de las células provienen de las observaciones sobre su efecto irritante en las mucosas; a partir de ello se empezaron a realizar diversos estudios en cultivos celulares, animales de experimentación y en poblaciones humanas expuestas, con el fin de establecer la relación entre el daño genotóxico y la aparición de enfermedades crónico degenerativas, principalmente el cáncer².

Diversos estudios realizados en animales de experimentación han revelado la propiedad genotóxica del formaldehído. Entre estas se encuentra el estudio realizado por Kitaeva et al. (1990) quien observó la generación de aberraciones cromosómicas y mutaciones dominantes letales en células de roedores expuestos a altas concentraciones de formaldehído⁵. Estudios más recientes, donde se emplean marcadores de mayor sensibilidad, demostraron que la inhalación de formaldehído causa daño genético tan pequeño como la ruptura de ADN de una sola hebra en linfocitos de ratas macho sometidas a diferentes concentraciones Im et al. (2006)⁶.

Investigaciones realizadas en diversos modelos experimentales con animales, han intentado explicar el daño que el formaldehído puede causar a nivel sistémico; sin embargo, los argumentos siguen siendo tema de debate, ya que los resultados son controversiales. Por ejemplo, los resultados de Kitaeva et al. (1990), quien encontró aberraciones cromosómicas en médula ósea de ratones expuestos⁵, difieren de los resultados encontrados por Dallas et al. (1992), quien no reportó efectos genotóxicos en médula murina⁷ y Speit et al (2009) que concluye que el formaldehído no produce genotoxicidad sistémica en ratas expuestas, incluso a altas concentraciones⁸.

Por otro lado, la capacidad para inducir daño genético a nivel local ha sido bien documentada, tal es así que en 2006 la OMS (Organización Mundial de la Salud), a través de la IARC (The International Agency for Research on Cancer) reclasificó

al formaldehído como agente cancerígeno en humanos, basándose en evidencia suficiente de múltiples estudios que avalan la capacidad genotóxica, citotóxica, mutagénica, proliferativa maligna y evidencias epidemiológicas relacionadas con la aparición de ciertos tipos de cáncer, principalmente de tipo nasal y nasofaríngeo².

En este sentido, los estudios de biomonitorización humana han cobrado gran relevancia en la identificación del riesgo genético al cáncer. En los últimos años se ha puesto énfasis en el uso de biomarcadores citogenéticos de mayor sensibilidad y empleo de muestras más específicas donde ocurre el daño. Tomando en cuenta las vías de exposición y rutas metabólicas del formaldehído, se deduce que las células de la mucosa nasal serían las dianas más adecuadas para la evaluación del daño genotóxico, ya que éstas son los primeros sitios de contacto con las genotoxinas aerotransportadas durante una exposición. Gluck y Gebbers (2000)⁹.

Sin embargo, las células nasales no son las únicas indicadoras útiles en la evaluación del daño local, actualmente la mayoría de estudios están empleando células exfoliadas del epitelio bucal para tales fines. Autores como Thomas et al (2009)¹⁰ y Holland et al. (2008)¹¹ concluyen que ambos tipos celulares son igualmente sensibles y útiles en la evaluación de riesgo genético por exposición a formaldehído. En la mayoría de estudios de biomonitorización se han obtenido resultados positivos tanto en células nasales como en células bucales; incluso algunos estudios han observado un mejor rendimiento empleando este último tipo celular, Saruda et al. (1993)¹² y Titenko et al. (1996)¹³.

Otra ventaja es que el número de estudios realizados con células nasales es mucho menor en comparación con aquellos realizados con células bucales; una de las razones puede ser que la recogida de células nasales es más tediosa y requiere más experiencia; además, como consecuencia de la escasez de estudios con células nasales, los ensayos de genotoxicidad, como el test de micronúcleos y ensayo cometa, están menos estandarizadas en comparación con los protocolos que emplean linfocitos periféricos y células bucales. Knasmueller et al. (2011)¹⁴.

Varios protocolos con células bucales han demostrado que el formaldehído genera daño al ADN; estos estudios emplearon principalmente ensayo cometa y test de micronúcleos como biomarcadores de genotoxicidad. Así, por ejemplo Saruda et al (1993) encontró una frecuencia de micronúcleos 12 veces mayor en estudiantes expuestos a formaldehído en comparación con estudiantes no expuestos¹².

Costa et al. (2008) empleó marcadores de efecto genotóxico como intercambio de cromátides hermanas, test de micronúcleos y ensayo cometa en células bucales exfoliadas. Su población fueron trabajadores con exposición de largo plazo a formaldehído de cuatro servicios de anatomía patológica. En este estudio, los efectos genotóxicos fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) en los tres biomarcadores en el grupo de expuestos. Además se encontró una correlación positiva entre los niveles de exposición y frecuencia de micronúcleos / longitud de cola. El promedio de formaldehído ambiental encontrado fue de 0,44 ppm, superando el límite laboral permitido¹⁵.

Viegas et al. (2010) evaluó en paralelo los niveles de formaldehído en laboratorios de anatomía patológica y los efectos genotóxicos de trabajadores ocupacionalmente expuestos, sus resultados mostraron que la población estaba expuesta a altas concentraciones de formaldehído (2.52 ppm); además mostraron elevados efectos genotóxicos (alta frecuencia de micronúcleos en células epiteliales bucales y linfocitos)¹⁶.

Otras investigaciones han reportado hallazgos similares. En Túnez, Bouraoui et al (2013) encontró que los trabajadores de laboratorios de patológica estaban expuestos a 3.4 ppm de formaldehído en su ambiente laboral y observó un incremento significativo en la frecuencia de micronúcleos en linfocitos. Sus resultados también mostraron un efecto directo del sexo y tiempo de exposición al observarse incremento de micronúcleos en mujeres y trabajadores con largo tiempo de trabajo¹⁷.

El empleo del ensayo cometa para determinar genotoxicidad sistémica (principalmente entrecruzamientos o crosslinks ADN-proteína en células sanguíneas) en individuos expuestos, también ha sido documentada. Shaham et al. (1996) encontró que este parámetro fue mayor en expuestos ($p=0,03$). Además, en aquellos trabajadores que estaban expuestos por periodos de tiempo más prolongados, hubo mayor tendencia en la presentación del número de entrecruzamientos¹⁸.

En un estudio posterior, Shaham et al. (2003) informó igualmente de un aumento en el número de entrecruzamientos ADN-proteína en linfocitos y en las concentraciones séricas de la proteína p53 de trabajadores expuestos a formaldehído en laboratorios de patología¹⁹.

Otro estudio, en el que se empleó test de micronúcleos con bloqueo de citocinesis combinado con hibridación in situ fluorescente (FISH), encontró que los trabajadores de patología mostraban un aumento estadísticamente significativo de células binucleadas y formación de micronúcleos monocentroméricos. Orsiere et al. (2006)²⁰.

2.2. FORMALDEHÍDO

Es un compuesto químico perteneciente a la familia de los aldehídos, se presenta a temperatura ambiente en forma de gas incoloro, tiene un olor acre y sofocante distintivo, que puede causar irritación en los ojos, nariz y vías respiratorias².

Se conoce también como aldehído fórmico, metanal, óxido de metileno, oximetileno, metilaldehído y oxometano. En solución acuosa se denomina formol o formalina.

2.3. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

El formaldehído es un compuesto muy reactivo e higroscópico. Se polimeriza fácilmente, particularmente en frío o en presencia de solventes polares (alcohol, agua, ácidos y álcalis). En soluciones acuosas se hidroliza y polimeriza para existir bajo la forma de hidrato y poliglicoles, como metilenglicol, polioximetileno y otros compuestos. El metanol y ciertos estabilizantes permiten reducir o inhibir esta polimerización. Se descompone por acción del calor. Se oxida lentamente con el aire formando ácido fórmico y de la oxidación completa se obtiene dióxido de carbono y agua²¹.

Es muy inflamable y forma mezclas explosivas en el aire en el intervalo de 7% a 73% en volumen a 25 °C. En ciertas condiciones de temperatura y humedad, la acción del formaldehído sobre el cloruro de hidrógeno puede originar óxido de (bis) clorometileno, un poderoso cancerígeno²².

En el **Anexo 1** se describen las principales propiedades fisicoquímicas del formaldehído.

2.4. PRESENTACIÓN

El formaldehído se comercializa como solución acuosa en concentraciones que van del 30 al 50% en peso, recibiendo el nombre de formol o formalina. Además, con el fin de inhibir su polimerización, la disolución contiene metanol a concentraciones de 0,5 a 15 % en peso²².

En el ámbito sanitario habitualmente se utilizan disoluciones al 3,7 - 4% de formaldehído y 0,5 -1,5 % de metanol, lo que en la práctica equivale diluir al 10% el formaldehído comercial de 37-40%.

En el **Anexo 2** se muestra la clasificación de peligrosidad del formaldehído a diferentes concentraciones.

2.5. PRESENCIA Y OCURRENCIA

El formaldehído se encuentra como un producto natural en la mayoría de los sistemas vivos y en el medio ambiente. Se produce naturalmente en frutas y algunos alimentos; además es producida de forma endógena en los mamíferos, incluyendo el hombre, como consecuencia del metabolismo oxidativo².

Está presente en el aire a pequeñas concentraciones, debido principalmente a la actividad económica del hombre. Se genera en los procesos de combustión; por ejemplo, a través de las emisiones de motores de vehículos, plantas de energía, refinerías, incineradores, estufas de leña y queroseno. El formaldehído puede ser liberado también de las virutas de madera, materiales de construcción, alfombras, pinturas, barnices y durante la cocción de algunos alimentos; además de estar presente en el humo del tabaco².

Su presencia en el medio ambiente es imperceptible y no representa riesgo alguno, debido a que tiene una vida media corta por su rápida eliminación a través de procesos fotoquímicos de precipitación y biodegradación. En consecuencia sus concentraciones en el ambiente por lo general están por debajo de 0,001

mg/m³ y 0,02 mg/m³ en zonas rurales y urbanas respectivamente³.

2.6. APLICACIONES Y USOS

El formaldehído es ampliamente usado en diferentes procesos. La generación de resinas constituye el principal uso a nivel mundial, seguido de la producción de papeles, textiles, adhesivos, acrílicos, plásticos, madera contrachapada y explosivos. Se emplea también en la industria de los metales como inhibidor de corrosión, en la recuperación de metales y en operaciones de electroplateado. Otras industrias aprovechan sus propiedades insecticidas, germicidas y funguicidas como preservante en la elaboración de detergentes, jabones, cosméticos, desodorantes y productos para la higiene oral; en la industria azucarera se usa como inhibidor de crecimiento bacteriano en los jugos de caña²,

En el ámbito sanitario, se utiliza principalmente como fijador de muestras histológicas, debido a sus propiedades desinfectante, perseverante y fijadora; se emplea también en la preparación del líquido de embalsamamiento, como esterilizante en ciertos autoclaves y como desinfectante de alto nivel en limpieza de superficies y material médico, junto con otros aldehídos²².

2.7. EFECTOS SOBRE LA SALUD

2.7.1. Efectos irritantes

La inhalación de formaldehído provoca irritación de ojos, nariz y faringe a bajas concentraciones; sin embargo, la experiencia de numerosos investigadores parece demostrar el desarrollo de tolerancia a concentraciones en el orden de 1-2 ppm, y que en general no se producen quejas en los trabajadores expuestos a niveles por debajo de 2 ppm; no obstante existe una gran variabilidad individual²³.

A partir de exposiciones de 4-5 ppm la irritación se agrava, llegando hasta la tráquea y bronquios, esta exposición normalmente no se tolera de forma prolongada. A partir de 10 ppm la severidad de los síntomas provoca dificultades

respiratorias. La inhalación excesiva (por encima de 20 ppm) provoca severa irritación del tracto respiratorio y puede causar lesiones graves a las vías respiratorias inferiores, llegando incluso a poner en peligro la vida²⁴.

2.7.2. Efectos alérgicos

El formaldehído es considerado un agente alérgeno para los seres humanos. La vía cutánea es la ruta de mayor incidencia en la aparición de síntomas de alergia; estas reacciones solo se presentan en individuos sensibles al formaldehído, por cuanto no todas las personas manifiestan estos efectos. Los síntomas que presentan las personas alérgicas incluyen dermatitis local en el área de contacto, edema laríngeo y broncoespasmo².

Además, los efectos irritantes del formaldehído sobre las vías respiratorias son causantes de favorecer el desarrollo de asma, principalmente de origen ocupacional^{25,26}.

2.7.3. Efectos Neurológicos

Algunos estudios sugieren que los trabajadores expuestos de forma crónica muestran disminución en el desempeño de sus labores, pérdida de la concentración, disminución en el desempeño de la memoria, variaciones en el estado de ánimo e irritabilidad. Los síntomas se pueden presentar en concentraciones desde 5 ppm^{27, 28}.

2.7.4. Reproducción y Desarrollo

No existe ningún estudio científico de rigor que relacione al formaldehído con riesgos en el embarazo. En trabajadoras expuestas; once estudios epidemiológicos han evaluado de forma directa o indirecta los efectos reproductivos: abortos espontáneos, malformaciones congénitas, bajo peso al nacer, infertilidad, etc., obteniéndose resultados inconsistentes²⁹.

2.7.5. Genotoxicidad

La mayoría de estudios demuestran que el formaldehído induce genotoxicidad in vitro e in vivo en diversos organismos. El peso de la evidencia indica que por sí mismo es capaz de reaccionar directamente con el ADN y producir daño genético local en tejidos que funcionan como puerta de entrada^{2, 3, 4}.

Estos estudios han demostrado que el formaldehído es genotóxico de acción directa, origina aductos de ADN, entrecruzamientos ADN-proteína, entrecruzamientos de ADN-ADN, roturas de ADN de una sola hebra, síntesis de ADN no programada, inhibición de la reparación del ADN, mutaciones de genes, transformación celular y alteraciones citogenéticas (intercambio de cromátides hermanas, aberraciones cromosómicas y formación de micronúcleos)^{4,30}.

2.7.6. Cáncer

La exposición crónica a formaldehído está asociada con el desarrollo de cáncer de vías respiratorias y generación de tumores nasales, ésta asociación es corroborada por diversos estudios experimentales y epidemiológicos que demostraron el desarrollo de diversos cuadros cancerígenos en la zona nasal y nasofaríngea^{2,4,21}.

En el **Anexo 3** se muestra la clasificación del formaldehído, en relación a su posible efecto cancerígeno, realizado por los principales organismos internacionales en salud y trabajo³¹.

2.8. TOXICOCINÉTICA

El formaldehído es producido naturalmente en pequeñas cantidades dentro del organismo, como parte del metabolismo normal; su concentración endógena en la sangre es de aproximadamente 1.5-3 mg/l y la exposición no incrementa este valor³². Dentro del organismo funciona como un intermediario esencial en todas las células, se produce durante el metabolismo normal de la serina, glicina,

metionina, colina y por la desmetilación de compuestos N- metilo, S- metilo y O- metilo. A continuación es oxidado a formiato y finalmente su átomo de carbono es oxidado a dióxido de carbono (CO₂) o es incorporado dentro de las purinas, timidinas y aminoácidos a través de la vía metil- tetrahidrofolato dependiente³³.

Siendo componentes normales del metabolismo intermediario, ni el formaldehído ni el formiato se almacenan de manera significativa en los tejidos del cuerpo. El formiato se excreta en la orina (principalmente como ácido fórmico incorporado a otras moléculas celulares), o es oxidado a dióxido de carbono para ser exhalado³⁴.

2.8.1. Absorción

El formaldehído de fuente exógena se absorbe fácilmente en las vías respiratorias; más del 90% se absorbe en el tracto respiratorio superior, principalmente en las fosas nasales y en menor medida en la nasofaringe; también se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal y comparte el mismo destino metabólico que la exposición inhalatoria; por el contrario muy poco formaldehído se absorbe por la vía cutánea³⁵.

Al parecer, su absorción está limitada a las capas celulares inmediatamente adyacentes al punto de contacto (células superficiales). La entrada de formaldehído a la sangre (la absorción sistémica) se produciría, en todo caso, en grado limitado.

2.8.2. Distribución

Después de la exposición a formaldehído, el principal tejido diana es la mucosa nasal, seguido de la mucosa nasofaríngea; ya que la mayor concentración de metabolitos derivados se expresa en estos epitelios³⁵.

No existe evidencia que el formaldehído llegue de manera significativa a los órganos internos lejanos, como el pulmón, riñón, hígado, intestino, corazón, cerebro o testículos.

2.8.3. Metabolismo

En principio, el formaldehído exógeno inhalado puede reaccionar directamente con el moco del tracto respiratorio superior, donde es retenido³⁶. El formaldehído no retenido se metaboliza rápidamente a formiato, a través de la enzima formaldehído deshidrogenasa (FDH), aldehído deshidrogenasa y, en situaciones limitadas, catalasa; esto se lleva a cabo en todos los tejidos del cuerpo como consecuencia de la formación endógena. El formaldehído endógeno y exógeno que entra en la vía metabólica de la FDH se elimina del cuerpo en forma de metabolitos, principalmente como formiato en orina o como CO₂ exhalado; por lo tanto el almacenamiento no es un factor en su toxicidad³⁷.

Si el formaldehído no es metabolizado por la FDH, entonces puede reaccionar con componentes celulares macromoleculares, incluyendo proteínas y ácidos nucleicos; formándose entrecruzamientos de ADN-proteínas o entrar en el pool metabólico de intermediarios de 1 carbono por unión al tetrahidrofolato³³.

En el **Anexo 4** se resumen las vías metabólicas del formaldehído.

2.8.4. Eliminación y excreción

Mediante modelos de experimentación animal se ha determinado que la exhalación es la principal vía de excreción, cerca del 40% de formaldehído inhalado se elimina por esta vía. La excreción en orina representa aproximadamente el 17% de la carga total inhalada, mientras que el 4% se excreta en las heces³⁴. Se ha estimado que entre 22-42% de formaldehído inhalado puede ser retirado por el flujo de moco respiratorio³⁶.

2.9. TOXICODINAMIA

La toxicidad del formaldehído se debe principalmente a sus propiedades altamente irritantes en los tejidos con los que entra en contacto. Los síntomas más comunes de la exposición inhalatoria son la irritación de ojos, nariz y garganta; estos síntomas se perciben a partir de concentraciones de 2-3 ppm durante períodos que varían de 40 minutos a 3 horas, aunque existe una gran variación interindividual en la respuesta a sus efectos irritantes³⁸.

La citotoxicidad del formaldehído ha sido comprobada por estudios con biopsias nasales de trabajadores crónicamente expuestos, en donde se observan hallazgos como inflamación crónica, pérdida de cilios, displasia leve, hiperplasia y metaplasia escamosa^{39,40}.

La carcinogenicidad del formaldehído ha sido comprobada también, gracias a los diferentes estudios que abalan la relación entre la inhalación y la inducción de cáncer nasofaríngeo y de senos nasales principalmente^{2,4,21}.

Los mecanismos por los cuales el formaldehído causa cáncer en estos tejidos no se entienden completamente y probablemente implican varios modos de acción; no obstante se han identificado varios eventos claves relacionados con la carcinogénesis, tales como la reactividad de ADN, mutación génica, rotura cromosómica, aneuploidía, efectos epigenéticos (unión a residuos de lisina de las histonas), depleción de glutatión, estrés oxidativo, citotoxicidad e inducción de proliferación celular^{41,42}.

Recientemente se han realizado importantes hallazgos acerca de la posible participación del formaldehído en la génesis de leucemias, en donde se demuestra in vitro la inhibición de la maduración de células progenitoras hematopoyéticas en cultivos celulares expuestos a formaldehído a concentraciones toxicológicamente relevantes⁴³.

2.9.1. Mecanismo de acción

El mecanismo exacto por el cual el formaldehído ejerce su efecto irritante, genotóxico y citotóxico no se conoce completamente. Se sabe que los aldehídos en general son productos químicos reactivos con un átomo de oxígeno altamente electronegativo y uno o varios átomos de carbono con menor electronegatividad, por lo que tienen un momento dipolar considerable; el átomo de carbonilo es el sitio electrófilo de estos compuestos, haciéndolo reaccionar con sitios nucleofílicos de las membranas celulares de los tejidos y fluidos del cuerpo, así como los grupos amino de las proteínas y del ADN⁴⁴.

El formaldehído se combina fácilmente con grupos aminos libres no protonados de los aminoácidos para producir hidroximetilo y un protón (H^+), que se cree está relacionado con sus propiedades germicidas. Cualquiera de estas propiedades pueden ser las responsables de los efectos de irritación observados durante la exposición. Es probable que la toxicidad se produzca cuando los niveles intracelulares saturan la actividad de la enzima FDH, saturando la protección natural contra éste y permitiendo que la molécula intacta no metabolizada ejerza sus efectos localmente. El metabolito primario del formaldehído, el formiato, no es tan reactivo como la molécula intacta, además está sujeto a la excreción como una sal en la orina^{33,34}.

Se sabe que el formaldehído puede formar entrecruzamientos ADN-proteína, de hecho algunos autores afirman que la principal vía metabólica del formaldehído es su incorporación a las macromoléculas (ADN, ARN y proteínas) de la mucosa olfativa y respiratoria. Los estudios revelan que las mayores concentraciones de entrecruzamientos ADN-proteína se hallan en los tejidos de los cornetes nasales, este efecto local se entiende bien ya que el formaldehído se disuelve rápidamente en la mucosa nasal tras el contacto, debido a su alta solubilidad en agua³⁵.

La exposición inhalatoria puede producir o exacerbar efectos alérgicos y asmáticos; ya que se ha observado que individuos con condiciones alérgicas y/o

enfermedades respiratorias son más sensibles a los efectos de las sustancias irritantes. Los posibles mecanismos para estos efectos no se han determinado completamente, sin embargo, se postula que el formaldehído puede facilitar una sensibilización de IgE a otros antígenos o puede producir una respuesta mediada por IgE hacia sí mismo²⁶.

El mecanismo de su probable toxicidad sistémica no está claro, pero dada su naturaleza altamente reactiva y la capacidad metabólica de las células, es plausible que pueda producirse efectos en sitios distantes, sólo cuando la capacidad para la disposición local es excedida. Varios estudios han sugerido que los efectos del formaldehído en sitios distantes se asocian con el estrés oxidativo debido a la producción de especies reactivas del oxígeno en la sangre, hígado y riñones^{45,46}.

En los últimos años se ha descubierto que el formaldehído daña células progenitoras hematopoyéticas in vitro, esto apoya la idea de su posible relación con enfermedades hematológicas, como la leucemia mieloide aguda, ya estas células son las dianas en la leucemogénesis.

Tres mecanismos han sido sugeridos para explicar la inducción de un posible efecto leucémico⁴⁷:

- Por daño directo a las células madre de la médula ósea.
- Por daño a las células progenitoras hematopoyéticas circulantes en sangre periférica
- Por daño a las células madre pluripotenciales presentes en los cornetes nasales y/o mucosa olfativa.

2.10. EXPOSICIÓN OCUPACIONAL

Es definida como la presencia de un agente químico en el aire de la zona de respiración de un trabajador. Cuando este término se emplea sin calificativos hace siempre referencia a la vía respiratoria, es decir, la exposición por inhalación⁴⁸.

La exposición ocupacional a solventes orgánicos ocurre en una amplia variedad de trabajos, por lo que se han establecido los Valores Límites Permisibles (TLV) **(ver Anexos 5 y 6)**, los cuales sirven como criterio de valoración en higiene ambiental. Los TLVs se basan en información obtenida a partir de estudios epidemiológicos, toxicológicos, experimentales, especulaciones químico-toxicológicas y ensayos con voluntarios en donde se miden los efectos tóxicos del agente. Estos valores límite están destinados a proteger la salud de los trabajadores de toda actividad ocupacional; además de servir para el control de riesgos inherentes a la exposición en los puestos de trabajo⁴⁹.

En el Perú, el TLV-ceiling (techo) para formaldehído es de 0.3 ppm ó 0.37 mg/m³, valor establecido por la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA)⁴⁸ del Ministerio de Salud y adoptado del Valor Límite Umbral de la ACGIH (Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales)⁵⁰. **(ver Anexo 7)**.

2.10.1. Exposición ocupacional en laboratorios de anatomía patológica

El formaldehído es empleado rutinariamente en los laboratorios de anatomía patológica con el fin de preservar las muestras de tejidos (biopsias y piezas quirúrgicas) que requieren estudio histopatológico; debido a que en estos servicios se procesan todas las muestras histológicas provenientes de diferentes consultorios, quirófanos y centros de salud; se genera constantemente emisiones de vapor que derivan de las mismas operaciones realizadas con las muestras fijadas y que afecta directamente la zona respiratoria del operador²³.

En el **Anexo 8** se muestran los niveles de exposición a formaldehído obtenidos en distintos ambientes de trabajo relacionados a salud.

2.10.2. Factores que influyen en la exposición dentro de los laboratorios de anatomía patológica

El estudio histopatológico de una muestra de tejido requiere de precisión y agudeza visual durante la fase inicial de descripción macroscópica y tallado, lo que obliga al operador a adoptar una posición muy próxima a la muestra, lo que genera un riesgo importante de inhalación de vapores.

Las operaciones realizadas con las piezas quirúrgicas, tales como las biopsias, lavados o perfusiones, especialmente si se trata de piezas de gran tamaño o incluso cadáveres, suponen una emisión del contaminante que afecta directamente la atmosfera respiratoria del operador. Otros factores importantes de emisión ocurren durante la eliminación de tejidos, la preparación de formol y el cambio de las soluciones en el procesador de tejidos, donde es muy común que se produzcan escapes de vapores⁵¹.

Por otro lado, existe una serie de tareas relacionadas, que debido a su carácter manual y a la diversidad de circunstancias, contribuyen a la mayor emisión de vapores al ambiente laboral, por ejemplo:

- Lavado de piezas quirúrgicas con agua para retirar el exceso de formol.
- Vaciado o trasvase del contenido de los recipientes que contienen las biopsias con formol.
- Gasas o papeles impregnados en formol utilizados para secar las biopsias que se mantienen en la mesa de tallado.
- Residuos de formol en el exterior de recipientes, producidos al extraer las biopsias.
- Evaporación de formol desde los recipientes de biopsias conservadas (por falta de hermetismo, cierre incorrecto u otros eventos).
- Evaporación desde el recipiente con formol donde se almacenan las muestras una vez talladas, para evitar su desecación.
- Derrames y salpicaduras de formol dentro y fuera de la mesa de tallado que

no se recogen inmediatamente.

- Derrames y/o salpicaduras en trasvases realizados desde los bidones o depósitos de almacenamiento de formol.

La exposición en laboratorios de anatomía patológica es por lo tanto variable. Los estudios de campo han permitido identificar ciertos factores determinantes en la exposición²²:

- La concentración de la disolución de formol utilizada.
- Tamaño y número de las piezas a procesar.
- Número de puestos de tallado en la misma sala.
- Presencia y eficacia de las campanas de extracción.
- Dimensiones de los locales.
- Tipo y eficacia de la ventilación.
- Métodos de trabajo empleados.

2.10.3. Niveles de exposición en Laboratorios de Anatomía Patológica

La concentración media de formaldehído encontrada regularmente en un laboratorio de anatomía patológica es de aproximadamente 0,5 ppm (0,6 mg/m³); sin embargo, en áreas de intenso trabajo con medidas preventivas deficientes, se llega a apreciar niveles de contaminación residual que superan las 6 ppm²².

En el **Anexo 9** se muestran los niveles de contaminación generados por las operaciones con formaldehído dentro de los laboratorios de anatomía patológica⁵¹.

2.11. BIOMONITORIZACIÓN DE AGENTES GENOTÓXICOS

Los efectos nocivos a la salud que se producen como consecuencia de la exposición a un factor ambiental, pueden expresarse inmediatamente o tardar varios años en manifestarse. Los estudios de biomonitorización intentan establecer la relación entre estos factores ambientales y la enfermedad, detectando alteraciones iniciales en fases todavía no malignas. Estos estudios

pueden basarse en el análisis de los compuestos químicos o sus metabolitos derivados en muestras biológicas (sangre, orina, pelo, uñas, etc.) o también pueden evaluar el riesgo de exposición mediante la determinación de posibles alteraciones biológicas inducidas en poblaciones humanas expuestas.

En el caso de agentes genotóxicos, la biomonitorización se extiende al uso de ensayos de genotoxicidad y mutagenicidad, que permiten la evaluación del daño a nivel genético. En conclusión, el objetivo de la biomonitorización es detectar la exposición a genotoxinas ambientales y determinar sus efectos genotóxicos in vivo⁵².

2.12. BIOMARCADORES COMO INDICADORES DE DAÑO GENOTÓXICO

El término biomarcador o marcador biológico se define como un evento medible que refleja la interacción entre un sistema biológico y un agente medioambiental, ya sea físico, químico o biológico⁵³. Un biomarcador puede ser cualquier sustancia, estructura o proceso que pueda ser monitorizado en los tejidos o fluidos de un individuo y que predice o influye en la salud de éste⁵⁴.

La identificación de biomarcadores de genotoxicidad de productos sospechosos de causar daño al DNA resulta útil, ya que puede definir un estado de pre patogénesis, lo cual es de vital importancia para la prevención de la enfermedad, que es el objetivo final de la biomonitorización.

En general los biomarcadores de genotoxicidad son una herramienta muy útil para evaluar el riesgo de exposiciones ambientales y ocupacionales, estos se pueden dividir en:

2.12.1. Biomarcadores de exposición

Un biomarcador de exposición es un químico, su metabolito, o el producto de la interacción entre un químico y alguna molécula diana, que puede ser medida en un compartimento o fluido biológico. Estos detectan si el agente genotóxico ha

penetrado en el organismo a diferentes niveles; si el compuesto ha interactuado con el material genético, se pueden detectar por la formación de aductos con macromoléculas como proteínas o el DNA. Un resultado positivo a este nivel no indica necesariamente consecuencias adversas, ya que parte del daño genotóxico primario puede ser reversible⁵⁵.

Para detectar la exposición a formaldehído se han empleado diferentes biomarcadores, como la concentración de formaldehído y ácido fórmico en sangre y orina, los cuales en su mayoría mostraron resultados inconsistentes, debido a la poca especificidad para formaldehído y a la gran variación intra e interindividual. Se han empleado también los entrecruzamientos ADN-ADN y ADN-proteína en células sanguíneas como biomarcadores de exposición, los cuales se emplean también como marcadores de daño genotóxico².

2.12.2. Biomarcadores de efecto

Un biomarcador de efecto es una alteración bioquímica, estructural o funcional en el organismo que, según su magnitud, puede estar asociada a una enfermedad o deterioro de la salud. Estas miden el daño genético una vez que ya ha sido procesado por el organismo. Las lesiones en el ADN, una vez procesadas, pueden convertirse en cambios permanentes en las células (mutaciones). Como son efectos fijados, reflejan daños relacionados a exposiciones pasadas, por lo que son útiles en la detección del daño acumulativo⁵⁵.

Los marcadores de efecto son los más empleados en los estudios de biomonitorización humana. Diversos ensayos se han llevado a cabo para investigar si la exposición a formaldehído produce daño genotóxico, empleándose biomarcadores de efecto, principalmente aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátides hermanas, micronúcleos y ensayo cometa.

2.12.3. Biomarcadores susceptibilidad

Un biomarcador de susceptibilidad se define como un indicador de una capacidad inherente o adquirida para responder frente a la exposición de una sustancia química. Dicho de otra forma, es un indicador de que el individuo es especialmente sensible al efecto de un xenobiótico. Estos se basan en identificar las diferencias interindividuales de susceptibilidad a diferentes exposiciones ambientales. La capacidad de reparación del daño genético también está determinada genéticamente; por lo tanto, aquellos individuos deficientes en los mecanismos de reparación sufrirán mayores niveles de daño genético irreversible, incluso frente a exposiciones de baja intensidad. Otros indicadores de susceptibilidad son las deficiencias inmunológicas y nutricionales, que pueden incidir en existencia de mayor riesgo genético⁵⁵.

2.13. ENSAYO COMETA

El ensayo cometa o electroforesis en gel de células individuales (SCGE) es una prueba ampliamente utilizada para evaluar el daño primario a la estructura del ADN por agentes genotóxicos. Se caracteriza por ser un método sensible, rápido, sencillo, de bajo costo y aplicable a varios tipos de células eucariotas. La técnica permite detectar el daño genético a través de la migración electroforética del ADN debido a rupturas simples y dobles en las cadenas nucleotídicas, entrecruzamientos ADN-ADN / ADN-proteína, daño oxidativo inducido y a sitios álcali lábiles. Su nombre deriva de la apariencia que cobran las células tras la realización del ensayo: una cabeza intensamente brillante y una cola, cuya longitud e intensidad están relacionadas con la cantidad de rupturas en la cadena de ADN. El ensayo demuestra la fragilidad de los sitios dañados a través de la migración, hacia el ánodo, de los fragmentos de ADN dañados cuando las células son sometidas a una diferencia de potencial durante una electroforesis a pH alcalino⁵⁶.

En el **Anexo 10** se ilustra la formación del cometa en el ensayo.

2.13.1. Ensayo Cometa en linfocitos

La utilización de muestras sanguíneas, en especial linfocitos aislados, ha sido una herramienta muy eficaz en la evaluación de la genotoxicidad de un sinnúmero de agentes. Los linfocitos periféricos aislados son muy sensibles para el análisis del potencial genotóxico de un agente y son utilizados con frecuencia debido a que, al estar en circulación, se puede considerar que su estado celular, nuclear y metabólico (incluyendo el ADN) refleja la exposición global del organismo⁵⁷.

Los linfocitos periféricos además son parte del sistema inmune, se encuentran principalmente en los órganos linfoides y, en menor medida, circulando por el torrente sanguíneo, a través del cual llegan a todos los órganos y tejidos del organismo. Por lo tanto, al emplear linfocitos periféricos como modelo experimental se puede también detectar el daño genético que ha sido inducido en cualquiera de los órganos donde estas células se distribuyen.

En general, los linfocitos periféricos representan un sistema muy ventajoso para realizar estudios de genotoxicidad, siendo sus principales ventajas:

- Son fáciles de obtener y cultivar
- Son circulantes y están en contacto con la genotoxinas
- Constituyen una población celular sincrónica (se encuentran en una misma fase del ciclo celular, G0), por lo que no se dividen y la tasa de reparación es baja.
- Representan un sistema sensible para la evaluación de una gran variedad de daño genético a través de numerosas técnicas.
- Se dispone de mucha información sobre los mismos, ya que son biomarcadores muy utilizados desde hace varias décadas.

2.14. TEST DE MICRONÚCLEOS

Los micronúcleos (MN) son masas de cromatina aisladas, que se evidencian en la interfase como corpúsculos citoplasmáticos esféricos, más pequeños y con las

mismas características morfológicas del núcleo celular. Se originan por pérdida de fragmentos cromosómicos o cromosomas enteros durante la división celular, debido a daños permanentes en el ADN producto de exposiciones a agentes genotóxicos, defectos en la mitosis y/o defectos en el sistema de reparación genética⁵⁸.

El test de MN permite determinar la actividad genotóxica de diferentes agentes basándose en el aumento de la frecuencia de MN encontrados en las células. Para la formación de MN, es esencial la división celular, por lo tanto la prueba sirve para cuantificar daño cromosómico clastogénico (roturas de ADN) y aneugénico (aneuploidías y poliploidías), esto permite detectar diferentes lesiones como: roturas simples y de doble cadena, diferentes aberraciones cromosómicas, alteraciones en las proteínas de segregación cromosómica y apoptosis⁵⁹.

El test de MN se viene empleando en muchos estudios de biomonitorización debido a que es un biomarcador útil en la evaluación del daño genotóxico por exposiciones ambientales y ocupacionales. La técnica presenta una serie de ventajas: es relativamente rápida, sencilla y de bajo costo, permite trabajar con diferentes tipos celulares en estado de interfase (lo que permite analizar un elevado número de células, en comparación con métodos que requieren células en metafase) y permite valorar efectos pasado bastante tiempo después de la exposición a genotóxicos.

En el **Anexo 11** se ilustra la formación de micronúcleos dentro de las células.

2.14.1. Test de micronúcleos y anormalidades nucleares en células epiteliales bucales

Los tejidos epiteliales están compuestos por células que proliferan muy rápidamente, muchas de ellas están en contacto continuo con el medio ambiente. A diferencia de otros tipos celulares, el epitelio está formado por varias capas de células que se van exfoliando a medida que alcanzan la superficie, de manera que

el daño citogenético que se detecta en la superficie es el que ha ocurrido en las capas basales, el lugar en donde las células se dividen⁵⁹.

Los cambios citogenéticos en estos tejidos son difíciles de estudiar por métodos tradicionales (aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátides hermanas) ya que necesitan ser cultivadas para obtener células en metafase; ante ello, el test de MN se presenta como solución conveniente, puesto que permite el análisis de células en etapa de interfase, que es la etapa donde se encuentra la mayoría de células en los epitelios; además, la rápida renovación de los epitelios hace que el máximo índice de formación de MN aparezca entre una y tres semanas después de la exposición al agente genotóxico, tiempo necesario para que las células migren desde las capas basales hasta la superficie⁵⁸.

El test de MN se puede aplicar a cualquier tejido que se divida, siendo el epitelio bucal idóneo, ya que presenta determinadas características: es de fácil acceso y recogida, es el punto de contacto con muchos agentes potencialmente peligrosos y es un epitelio con alta proliferación, lo que permite que la población celular se mantenga constante. Estas particularidades también demuestran que el epitelio bucal es más vulnerable a lesiones medioambientales, por eso cobra gran relevancia en el monitoreo de agentes genotóxicos/cancerígenos.

Además de los MN en células bucales, se han descrito otras anormalidades nucleares (AN), las que además de ser fenómenos que pueden ocurrir en el proceso de diferenciación celular, son indicadores de daño al ADN, citotoxicidad y muerte celular. Estas alteraciones sugestivas en la morfología de las células neoplásicas, son modificaciones en el tamaño, densidad y distribución de la cromatina. El mecanismo de formación y significado biológico de las AN no está esclarecido completamente, sin embargo, bajo condiciones patológicas y de exposición se observan con frecuencia. La formación de MN y AN han sido evaluadas como marcadores de daño genético, defectos en la citocinesis, muerte celular y necrosis⁶⁰.

Para su identificación se usan los criterios establecidos por Tolbert et al (1991)⁶¹.

Gemación: También llamado núcleo lobulado, prolongación nuclear o broken egg. El núcleo presenta una constricción en un extremo, sugestivo de un proceso de eliminación de material nuclear por gemación. El lóbulo presenta las mismas características morfológicas y de tensión que el núcleo, pero el tamaño es 1/3 a 1/4 del núcleo. El origen y significado biológico de las gemaciones en células exfoliadas aun no es totalmente comprendido. Varios investigadores consideran a las gemaciones en linfocitos como indicadores de genotoxicidad, sin embargo, en células epiteliales bucales, aún no es claro completamente.

Binucleación: La célula contiene dos núcleos principales, usualmente los núcleos están muy próximos e incluso podrían hacer contacto, ambos con morfología y tinción similar a un núcleo normal. Más que indicar una interacción directa con el ADN, parece estar relacionada con interferencia en los eventos finales de la división celular y falla en la citocinesis.

Cariorrexis: Consta de un núcleo que se caracteriza por la agregación de la cromatina. Presentan un patrón moteado indicativo de fragmentación nuclear, que conduce a la eventual desintegración del núcleo. Las células en cariorrexis indicarían una fase avanzada de apoptosis.

Cromatina Condensada: El núcleo está intensamente teñido, con regiones condensadas o cromatina agregada que se pierde en otras áreas. Estas células, al igual que las células en cariorrexis, terminan con la fragmentación del núcleo. Su origen aun no está determinado con claridad, probablemente corresponda a etapas tempranas de la apoptosis.

Núcleo picnótico: Se caracteriza por la presencia de un núcleo pequeño, con alta densidad de material nuclear uniforme e intensamente teñido. El diámetro del núcleo es aproximadamente 1/3 de un núcleo normal y se piensa que estas células son una forma de muerte celular.

Cariolisis: La célula está completamente vacía de ADN y por lo tanto, carece de núcleo. Es probable que representen una fase muy avanzada del proceso de muerte celular.

En comparación con otros ensayos de genotoxicidad empleados en biomonitorización humana, el test de MN y AN en células bucales presenta grandes ventajas como:

- Es simple y rápida. Si bien es una ventaja común a la técnica, ya que se puede emplear cualquier tipo celular, las células de exfoliación no necesitan ser cultivadas, por lo que su procesamiento requiere menor tiempo y un equipamiento básico.
- El blanco o diana está bien definido y se puede reconocer fácilmente.
- La simplicidad de la recolección de las células, junto con la metodología no invasiva, hace que el test sea aplicable a multitudes de muestras.

III. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar el daño genotóxico en trabajadores expuestos a formaldehído de tres laboratorios de anatomía patológica de Lima Metropolitana.

3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la concentración de formaldehído en aire de tres laboratorios de anatomía patológica de Lima Metropolitana.
- Determinar el daño genotóxico local por exposición a formaldehído mediante Test de micronúcleos y anormalidades nucleares en células epiteliales bucales.
- Determinar el daño genotóxico sistémico por exposición a formaldehído mediante Ensayo cometa en linfocitos de sangre capilar.
- Evaluar la influencia del sexo, edad, consumo de medicamentos, tiempo de exposición, frecuencia de exposición, uso de respirador para solventes orgánicos, exposición a otros agentes químicos en el daño genotóxico.

VI. MÉTODOS

4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación es descriptivo transversal

4.2. POBLACIÓN

La población de estudio fueron los trabajadores expuestos a formaldehído de laboratorios de anatomía patológica de Lima Metropolitana.

4.3. MUESTRA

La muestra de estudio estuvo conformada por 42 trabajadores expuestos a formaldehído de tres laboratorios de anatomía patológica de Lima Metropolitana. La estimación del tamaño de la muestra se detalla en el **Anexo 12**.

Se consideró un segundo grupo de estudio conformado por 38 trabajadores con características similares al primer grupo, pero con la diferencia esencial de no estar expuestos a formaldehído.

Los grupos de estudio se denominaron:

- **Expuestos:** Aquellos trabajadores de laboratorios anatomía patológica caracterizados por estar en contacto con vapores de formaldehído durante sus labores diarias; este grupo lo conformaron médicos residentes de patología, médicos patólogos, técnicos de laboratorio de patología y tecnólogos médicos con funciones en el área de fijación y/o macroscopia.
- **No expuestos:** Aquellos trabajadores de otros rubros no relacionados al contacto con formaldehído durante sus labores diarias, este grupo lo conformaron principalmente personal administrativo.

4.3.1. Muestreo

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, dado que los participantes no fueron seleccionados al azar, sino intencionalmente en base a sus características de exposición y accesibilidad para participar en el estudio.

4.3.2. Área de estudio

Las áreas de estudio fueron los laboratorios de anatomía patológica del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas y Morgue Central de Lima.

4.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN

4.4.1. Expuestos

Criterios de inclusión:

- Trabajadores de cualquier sexo y edad que laboren actualmente en el laboratorio de anatomía patológica.
- Trabajadores que estén expuestos a formaldehído durante al menos 15 minutos diarios en su trabajo⁴⁸.
- Trabajadores con un tiempo no menor a 1 mes de iniciadas sus labores relacionadas con exposición a formaldehído⁵⁸.

Criterios de exclusión:

- Trabajadores fumadores de tabaco, con hábitos de consumo mayor o igual a 1 cigarro por día⁶²
- Trabajadores consumidores de alcohol, con hábitos de consumo mayor o igual a 3 veces por semana⁶³

- Trabajadores expuestos a rayos x
- Trabajadores con lesión permanente en el epitelio bucal
- Trabajadores que no firmen el consentimiento informado.

4.4.2. No expuestos

Criterios de inclusión:

- Trabajadores de otros rubros no relacionados al laboratorio de anatomía patológica.
- Trabajadores que no tengan contacto con vapores de formaldehído dentro y fuera de su centro de trabajo.

Criterios de exclusión:

- Trabajadores que estén expuestos a otros agentes químicos con capacidad genotóxica.
- Los mismos criterios de exclusión para los participantes del grupo No Expuestos.

4.5. VARIABLES

4.5.1. Variable dependiente:

Daño genotóxico, expresado en:

- Frecuencia de Micronúcleos
- Frecuencia de Binucleaciones
- Frecuencia de Gemaciones
- Índice de Apoptosis
- Tail Moment
- Tail Intensity
- Tail Length

4.5.2. Variable independiente:

Concentración de formaldehído en aire

4.5.3. Variables Intervinientes:

- Sexo
- Edad
- Consumo de medicamentos
- Tiempo de trabajo
- Frecuencia de exposición
- Uso de respirador para vapores orgánicos
- Exposición a otros agentes químicos

4.5.4. Operacionalización de variables:

Variables	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Indicador	Instrumento de medición
Daño genotóxico	Alteración en la estructura del ADN o en la función de sus proteínas asociadas causada por la interacción con un agente tóxico	Cuantitativa	Razón	Frecuencia de Micronúcleos Frecuencia de Gemaciones Frecuencia de Binucleaciones Índice de Apoptosis Tail Moment Tail Intensity Tail Length	Test de micronúcleos y anormalidades nucleares Ensayo Cometa
Concentración de formaldehído en aire	Cantidad de formaldehído presente en el aire de la zona de respiración del trabajador	Cuantitativa	Razón	mg/m ³ de formaldehído	Espectrofotómetro
Sexo	Condición orgánica que distingue a los seres humanos en varón y mujer	Cualitativa	Nominal	Femenino Masculino	Cuestionario
Edad	Tiempo de existencia desde el nacimiento	Cuantitativa	Razón	Años	Cuestionario

Variables	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Indicador	Instrumento de medición
Consumo de medicamentos	Consumo regular de algún tipo de medicamento al momento del estudio	Cualitativa	Nominal	Si No	Cuestionario
Tiempo de trabajo	Años transcurridos desde el primer día de trabajo con formaldehído	Cuantitativa	Razón	Años de trabajo	Cuestionario
Frecuencia de Exposición	Número aproximado de horas diarias que se trabaja con formaldehído	Cuantitativa	Razón	Horas/día	Cuestionario
Uso de respirador para vapores orgánicos	Uso permanente de un respirador para vapores orgánicos cuando se trabaja con formaldehído	Cualitativa	Nominal	Si No	Cuestionario
Exposición a otros agentes químicos	Contacto inhalatorio o dérmico con algún compuesto químico durante el trabajo	Cualitativa	Nominal	Si No	Cuestionario

4.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

4.6.1. Ensayo cometa

Mide el daño genotóxico sistémico en linfocitos de sangre capilar a través de tres parámetros: tail Moment, tail Intensity y tail Length.

4.6.2. Test de micronúcleos y anormalidades nucleares

Mide el daño genotóxico local en células epiteliales bucales a través de cuatro parámetros: frecuencia de micronúcleos, frecuencia de gemaciones, frecuencia de binucleaciones e índice de apoptosis (cromatina condensada + cariorrexis + picnósis).

4.6.3. Espectrofotometría UV-VIS

Mide la concentración de formaldehído en aire (en mg/m^3).

4.7. PLAN DE PROCEDIMIENTOS

4.7.1. Selección de sujetos

La selección se realizó en base a las características de exposición ocupacional a formaldehído y los criterios de inclusión y exclusión establecidos; pero estuvo determinada por la disponibilidad de los voluntarios al momento del estudio.

Se seleccionó 42 trabajadores de laboratorios de anatomía patológica, entre médicos patólogos, médicos residentes de patología, técnicos de laboratorio y tecnólogos médicos con funciones en las áreas de fijación y/o macroscopia del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen y Morgue Central de Lima. Ellos conformaron el grupo “Expuestos” y se caracterizaron por estar en contacto con vapores de formaldehído en su zona de respiración durante un algún periodo de tiempo en su horario de trabajo.

Adicionalmente se seleccionó 38 trabajadores de otros rubros no relacionados al uso de formaldehído. Ellos conformaron el grupo “No expuestos” y se caracterizaron por compartir características similares al grupo Expuestos, pero con la diferencia esencial de no tener contacto con formaldehído dentro y fuera de su horario de trabajo. Este grupo estuvo compuesto principalmente por trabajadores administrativos del Ministerio Público (MPFN) y Centro Nacional de Salud Ocupacional y Protección del Ambiente para la Salud (CENSOPAS - INS).

4.7.2. Encuesta

Los participantes de ambos grupos respondieron un cuestionario con el fin de obtener información sociodemográfica relevante, caracterizar el modo exposición e identificar factores intervinientes. **(ver Anexo 13).**

4.7.3. Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

Se recolectó una muestra de sangre capilar y una muestra de células epiteliales bucales a través de punción capilar y raspado bucal respectivamente **(ver Anexo 14)**. Inmediatamente después de la recolección, las muestras fueron enviadas al laboratorio de Toxicogenética del CENSOPAS - INS para su procesamiento.

4.7.4. Aislamiento de linfocitos de sangre capilar

Se empleó el protocolo descrito por Zúñiga (2009)⁵⁷ con modificaciones propias para el aislamiento de linfocitos a partir de pequeños volúmenes de sangre. **(ver Anexo 15).**

4.7.5. Ensayo cometa en linfocitos de sangre capilar

Se empleó el protocolo descrito por Olive et al. (2006)⁵⁶ con modificaciones del Protocolo para Ensayo Cometa del laboratorio de Toxicogenética del CENSOPAS. **(ver Anexo 16)**

La evaluación del daño genotóxico en linfocitos se realizó a través del software Comet assay IV, de la compañía Perceptive Instruments Ltda, que calculó los parámetros de Tail Moment, Tail Intensity y Tail Length.

4.7.6. Test de micronúcleos y anormalidades nucleares en células epiteliales bucales

Se realizó de acuerdo al protocolo descrito por Torres et al. (2013)⁵⁹ con modificaciones del protocolo para test de micronúcleos del laboratorio de Toxicogenética del CENSOPAS. Para el análisis celular se empleó la tinción fluorescente Naranja de Acridina, la cual es específica para ADN (**ver Anexo 17**)

La evaluación se realizó en 1000 células por muestra, siguiendo los criterios establecidos por Tolbert et al. (1991)⁶¹.

Se tomó en cuenta como parámetros de genotoxicidad la frecuencia de micronúcleos, frecuencia binucleaciones, frecuencia de gemaciones e índice de apoptosis, éste último expresado como la suma de frecuencias de cromatinas condensadas, cariorrexis y picnósis.

4.7.7. Captación de muestras de aire

Se captó una muestra de aire en el área de macroscopía de cada laboratorio participante durante un día normal de trabajo. Se empleó una bomba que aspira aire a través de un elemento de retención (frascos borboteadores con solución captadora de sulfito de sodio al 1%) quedando el formaldehído retenido en el mismo para su posterior análisis espectrofotométrico. Se realizó el muestreo de aire por 30 minutos, manteniendo un caudal constante de 1 litro/minuto, el cual fue verificado con el uso de un rotámetro conectado al sistema de captación (**ver anexo 18**).

4.7.8. Determinación de formaldehído en aire

Se determinó la concentración de formaldehído en aire por método espectrofotométrico mediante sal disódica del ácido 4-5 dihidroxinaftaleno 2-7 disulfónico (ácido cromotrópico), método que está validado por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) de España. El método consiste en la captación de formaldehído mediante una solución acuosa de sulfito sódico al 1% (m/m) y su posterior reacción con los ácidos cromotrópico y sulfúrico concentrado; esto da lugar a la formación de un complejo que presenta su máximo de absorción de radiación electromagnética en la zona visible (580 nm). (**ver Anexo 18**).

Debido a la limitación de disponibilidad de reactivos para el análisis, se encargó la determinación colorimétrica a un laboratorio privado dedicado al monitoreo ambiental (J y R Laboratorios Analíticos SAC) donde se calculó el valor ceiling de formaldehído en el aire de los ambientes de trabajo (**ver anexo 19**). Los mismos que sirvieron para compararlos con el valor límite permisible (TLV) establecido por la DIGESA (**ver Anexo 7**).

4.8. ANÁLISIS DE DATOS

Se elaboró una base de datos con las variables dependientes, independientes e intervinientes con el fin de hacer una descripción demográfica de la población (edad, sexo, ocupación, medicación) y la caracterización de la exposición (tiempo de trabajo con formaldehído, uso respirador para vapores orgánicos, frecuencia de exposición, exposición a otros agentes). Se empleó las pruebas t de student y χ^2 de Pearson para evaluar la equivalencia en las características básicas de los grupos expuestos y no expuestos.

El supuesto de normalidad del conjunto de datos fue contrastado empleando la prueba de Shapiro-Wilks, esto permitió seleccionar el tipo de estadístico más apropiado para comparar las medias de los grupos de estudio.

Las diferencias entre los grupos de estudio respecto al daño genotóxico fueron analizadas con la pruebas t de student para muestras independientes, U de Mann-Whitney y H de Kruskal-Wallis (para más de dos grupos de estudio) dependiendo si las variables dependientes se alejaban o ajustaban a la distribución normal.

El análisis conjunto se realizó mediante el programa estadístico SPSS 22.0. El valor $p \leq 0,05$ se consideró como el nivel estadísticamente significativo en todas las pruebas empleadas.

4.9. CONSIDERACIONES ÉTICAS

La realización del presente estudio no involucró riesgo a la salud de los participantes, excepto por las posibles molestias durante o después de la toma de muestra sanguínea. La confidencialidad de la información proporcionada en el cuestionario fue garantizada por el carácter anónimo de éste y el acceso a los resultados fue manejado únicamente por el autor de la investigación. Todas estas consideraciones fueron conocidas al detalle y aceptadas por los participantes a través del consentimiento informado (**ver Anexo 20**).

V. RESULTADOS

5.1. Evaluación de la exposición ocupacional a formaldehído

Se realizó el monitoreo ambiental de formaldehído en los laboratorios de patología de las sedes participantes. Se determinó la concentración ceiling para cada ambiente y se comparó con el Valor Limite Permisible (TLV-ceiling) para formaldehído. Los resultados se muestran en la **Figura 1**.

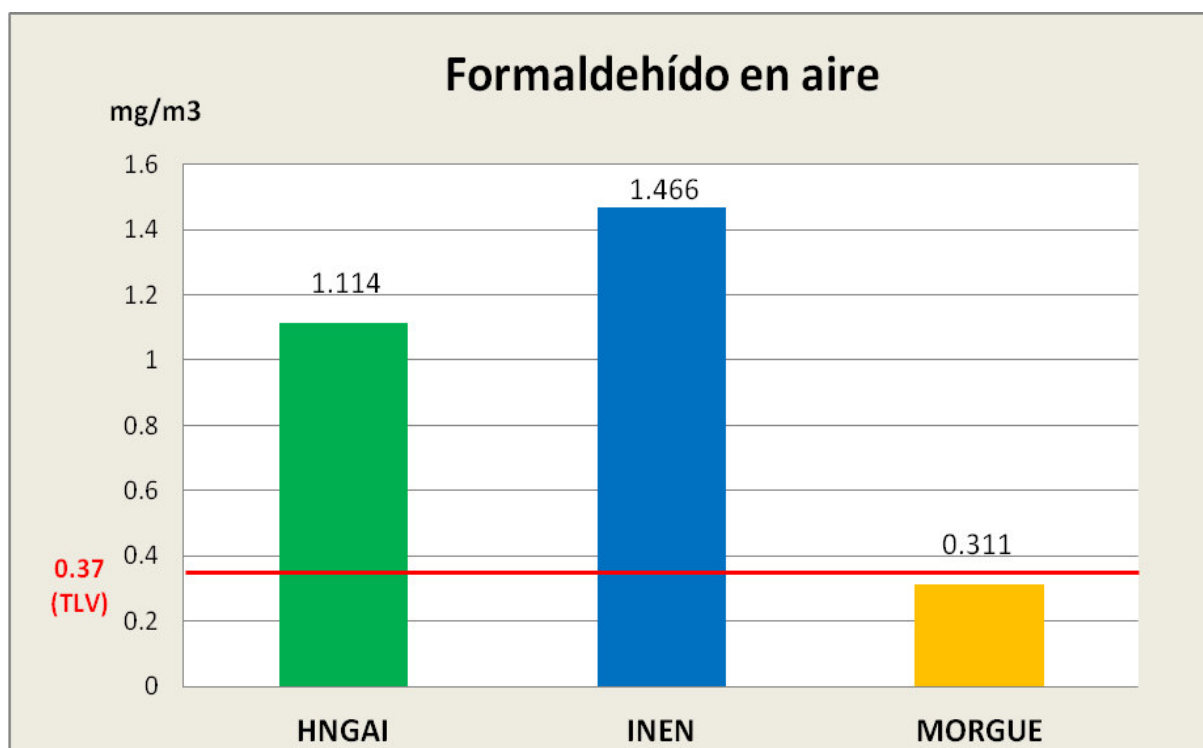


Figura 1. Niveles de exposición ocupacional a formaldehído

Los resultados obtenidos en los laboratorios del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen e Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas superaron el TLV establecido por el Ministerio de Salud (1.114 y 1.466 mg/m³ respectivamente), mientras que la concentración ambiental en la Morgue Central de Lima no superó dicho límite (0.311 mg/m³). La concentración promedio para las tres sedes fue de 0.96 mg/m³.

5.2. Caracterización de la población

La caracterización de la población estudiada se resume en la **Tabla 1**.

Se empleó las pruebas t de student y χ^2 de pearson para evaluar si las características demográficas de los grupos expuestos y no expuestos son equivalentes, y por lo tanto, comparables. Se observó que ambos grupos no diferían estadísticamente en edad, sexo ni consumo de medicamentos ($p > 0.05$).

Se eliminó del análisis de datos a los participantes con hábitos tabáquicos y alcohólicos, así como aquellos que presentaron exposición a otros agentes genotóxicos en el grupo de No expuestos.

Tabla 1. Características demográficas de los grupos de estudio

	No Expuestos	Expuestos	valor p
Número de sujetos	38	42	
Sexo			
Masculino	18 (47.4%)	16 (38.1%)	0.402 ^a
Femenino	20 (52.6%)	26 (61.9%)	
Edad (años)			
Rango	20-52	23-56	0.475 ^b
Media	34.35	40.76	
DS	8.186	8.969	
Medicamentos			
Consumidor	8 (21.6%)	9 (22.0%)	0.972 ^a
No consumidor	29 (78.4%)	32 (78.0%)	

DS: Desviación estándar

a. prueba χ^2 de pearson

b. prueba t de student

Las ocupaciones de los participantes de cada grupo se describen en la **Figura 2** y **Figura 3**. El grupo No expuestos estuvo conformado por 11 personales administrativos (29%), 10 abogados (26%) y 5 ingenieros de sistemas y software (13%). 12 participantes pertenecieron a otros rubros diferentes (32%).

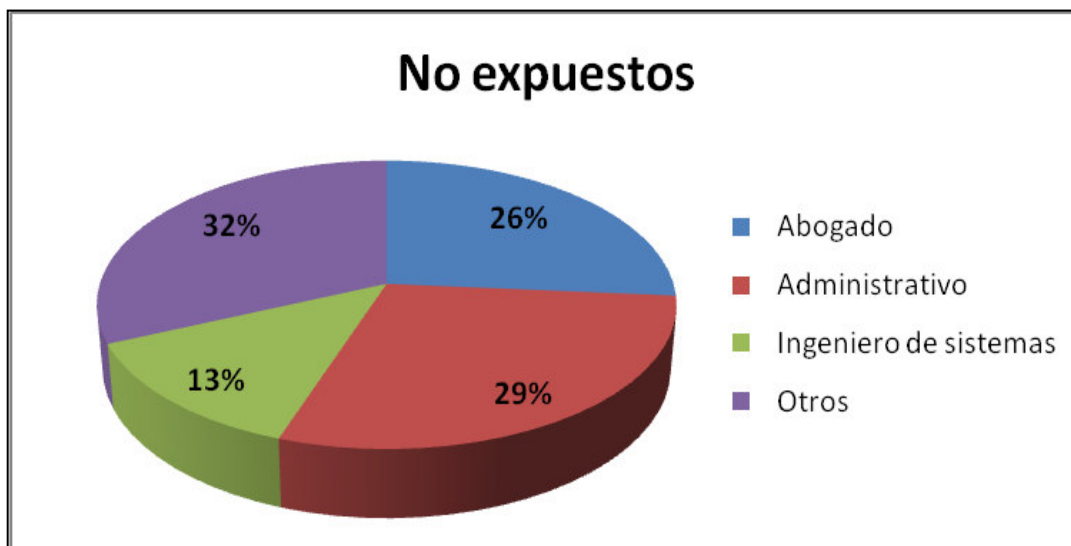


Figura 2. Distribución de las ocupaciones en el grupo No Expuestos

El grupo Expuestos estuvo conformado por 10 médicos patólogos (24%), 10 médicos residentes de patología (24%), 14 tecnólogos médicos con labores de macroscopía (33%), 7 técnicos de laboratorio de patología (17%) y un biólogo patólogo (2%).

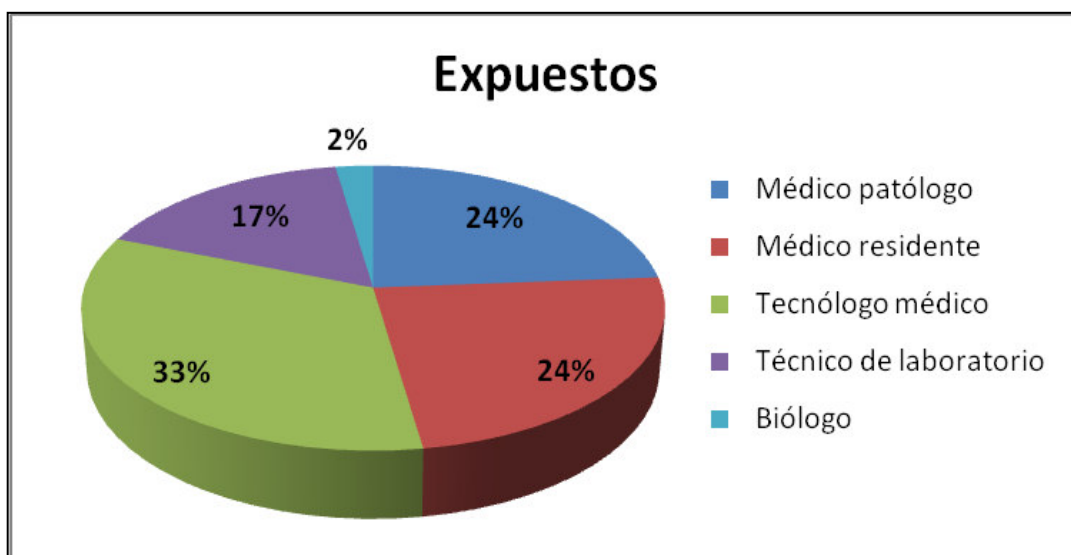


Figura 3. Distribución de las ocupaciones en el grupo Expuestos

5.3. Caracterización del grupo expuestos.

Las características de exposición en el grupo Expuestos se resumen en la **Tabla 2**. El grupo de estudio fue analizado según el tipo de ocupación con el fin de describir las variables intervinientes.

Tabla 2. Características de exposición según ocupación en el grupo de expuestos

	Médico patólogo	Médico residente	Tecnólogo médico	Técnico de laboratorio
Tiempo de trabajo (años)				
Rango	5-24	0.8-3	1-28	1.3-33
Media	15.18	1.66	12.46	10.14
DS	6.089	0.962	7.238	11.151
Frecuencia de exposición (h/día)				
Rango	0.7-2	1.5-7	0.5-12	0.7-10
Media	1.39	3.47	5.75	5.46
DS	0.538	2.061	2.886	3.324
Uso de respirador				
Si	2 (20%)	4 (40%)	4 (26.7%)	3 (42.9%)
No	8 (80%)	6 (60%)	11 (73.3%)	4 (57.1%)
Exposición a otros agentes				
Si	3 (30%)	3 (30%)	13 (86.7%)	5 (71.4%)
No	7 (70%)	7 (70%)	2 (13.3%)	2 (28.6%)

DS: Desviación estándar

En la **Figura 4** se muestra el tiempo de trabajo según tipo de ocupación. Se observó que el grupo de profesionales con mayor tiempo de trabajo fueron los médicos patólogos (15.2 años), seguido de los tecnólogos médicos (12.5 años) y técnicos de laboratorio (10.2 años). Los médicos residentes fueron el grupo con menor tiempo de trabajo en el laboratorio (1.7 años).

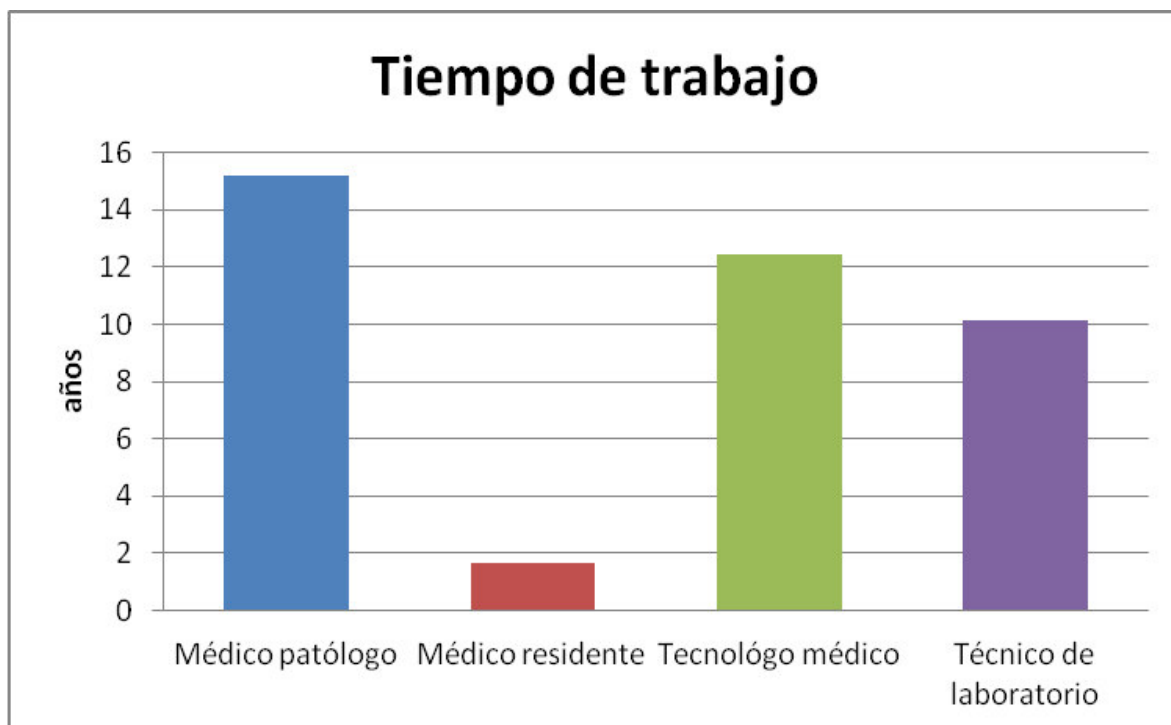


Figura 4. Tiempo de trabajo según tipo ocupación

En la **Figura 5** se muestra la frecuencia de exposición según tipo de ocupación. Se observó que el grupo de profesionales con mayor frecuencia de exposición fueron los tecnólogos médicos (5.8 horas/día), seguido de los técnicos de laboratorio (5.5 horas/día) y médicos residentes (3.5 horas/día). Los médicos patólogos fueron el grupo con menor frecuencia de exposición (1.4 horas/día).

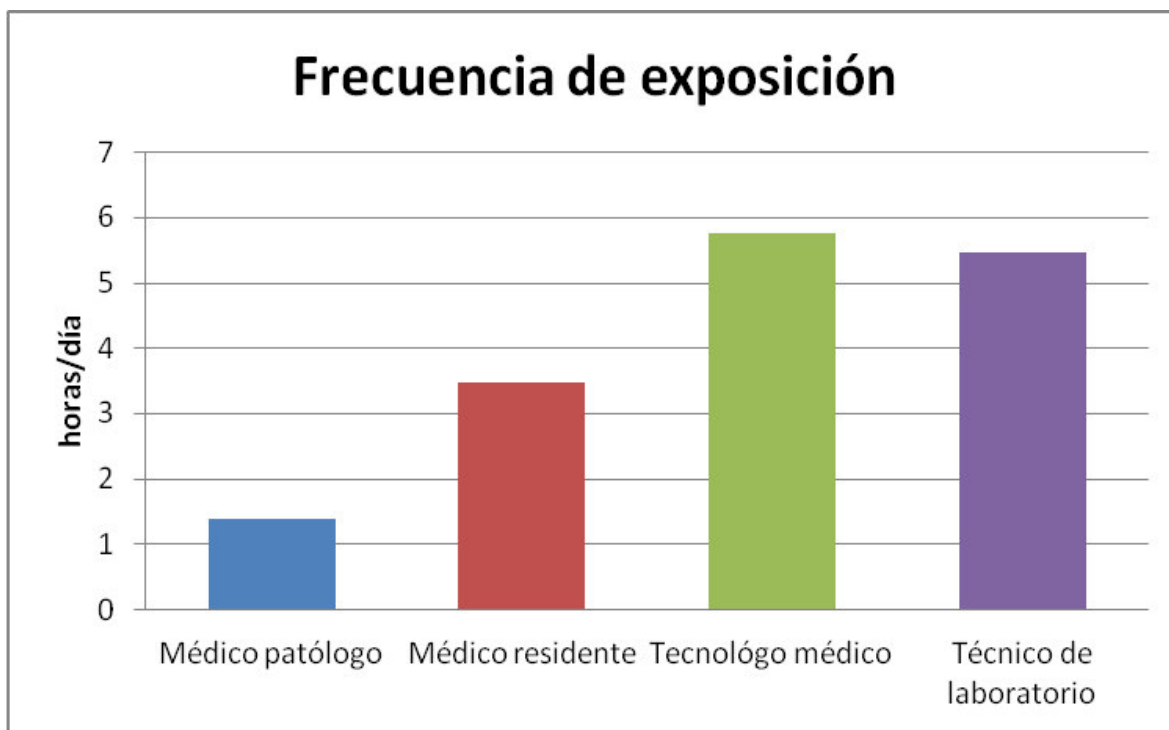


Figura 5. Frecuencia de exposición según tipo de ocupación

En la **Figura 6** se muestra el uso de respiradores para solventes orgánicos según tipo de ocupación. Se observó que la mayoría de profesionales, en todos los grupos de trabajo, no utiliza respirador al momento de trabajar con formaldehído.

En la **Figura 7** se muestra la exposición a otros agentes químicos en el trabajo según tipo de ocupación. Se observó que la mayoría de médicos patólogos y médicos residentes no están expuestos a otros agentes químicos, mientras que la mayoría de tecnólogos médicos y técnicos de laboratorio presentan exposición a otros agentes químicos en el laboratorio.

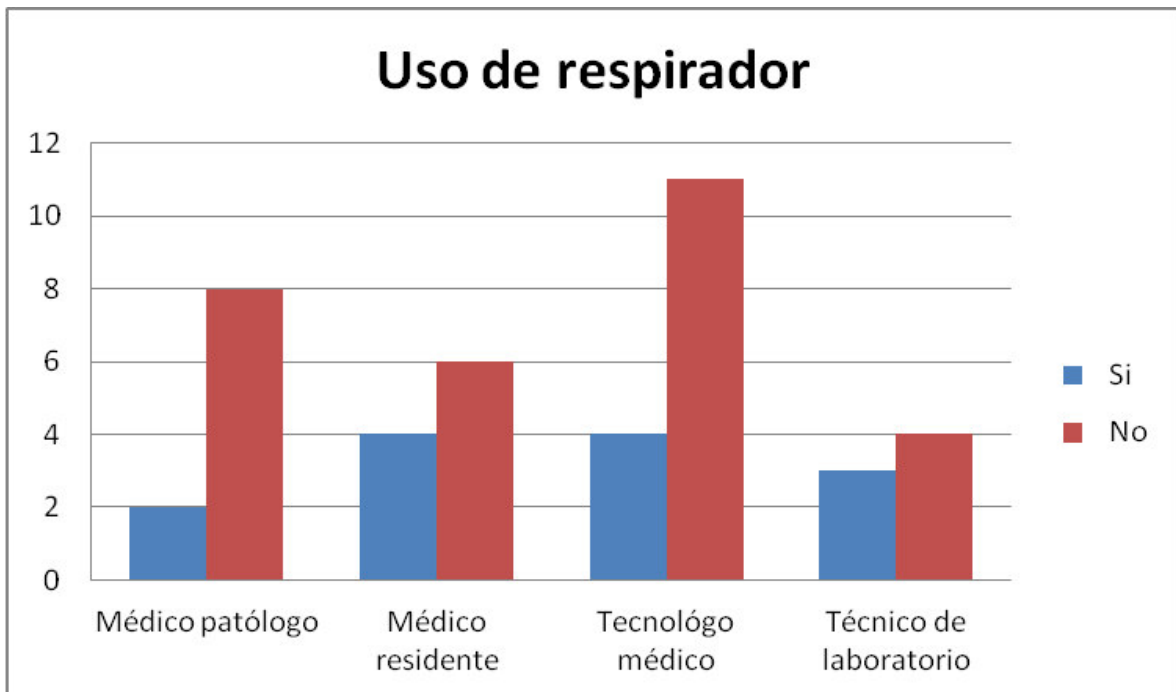


Figura 6. Uso de respirador para solventes orgánicos según tipo de ocupación

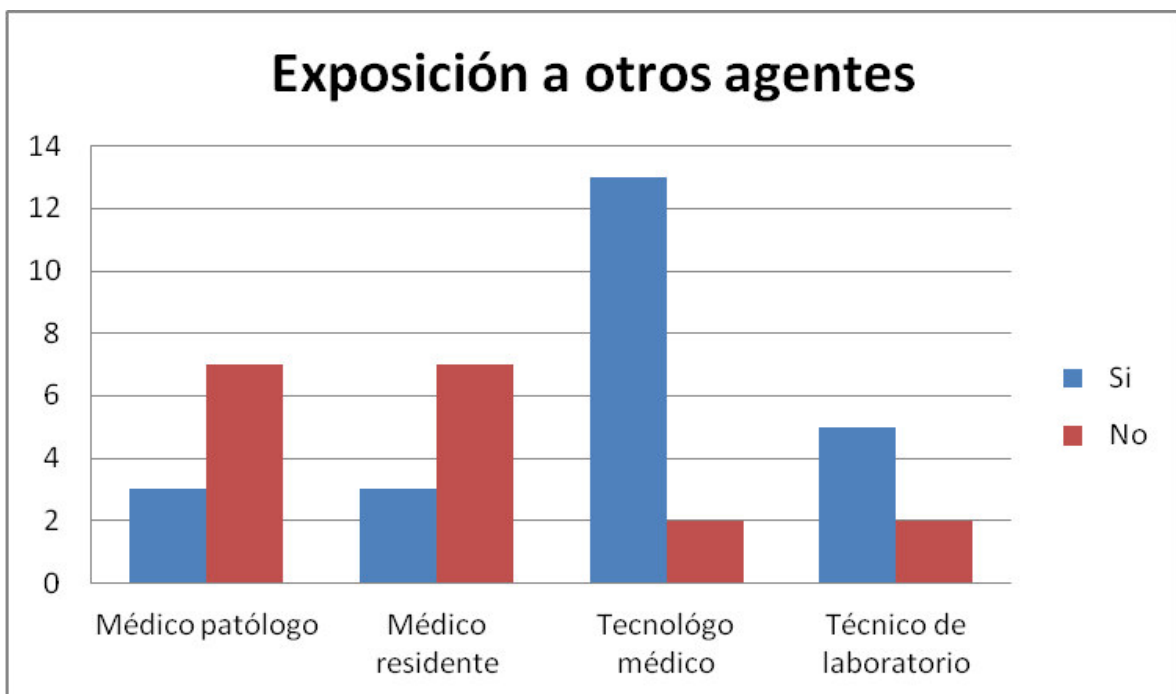


Figura 7. Exposición a otros agentes químicos según tipo de ocupación

En la **Tabla 3** se resume otros agentes químicos a los que están expuestos los trabajadores de laboratorios de anatomía patológica. Se observó que el 57.1 % de los trabajadores expuestos a formaldehído también estaban expuestos a xileno, 26.2% a alcohol y 11.9% a ácido nítrico.

Tabla 3. Otros compuestos químicos a los que están expuestos los trabajadores de laboratorios de anatomía patológica

Agente químico	N	%
Xileno	24	57.1%
Alcohol	11	26.2%
Ácido nítrico	5	11.9%
Ácido acético	2	4.8%
Ácido clorhídrico	1	2.4%
Amoniaco	1	2.4%

En la **Tabla 4** se resume los principales efectos generados durante la exposición a formaldehído. Se observó que la principal complicación fue la rinitis (47.6%), seguido por la dermatitis (21.4%) e irritación ocular (19.0%).

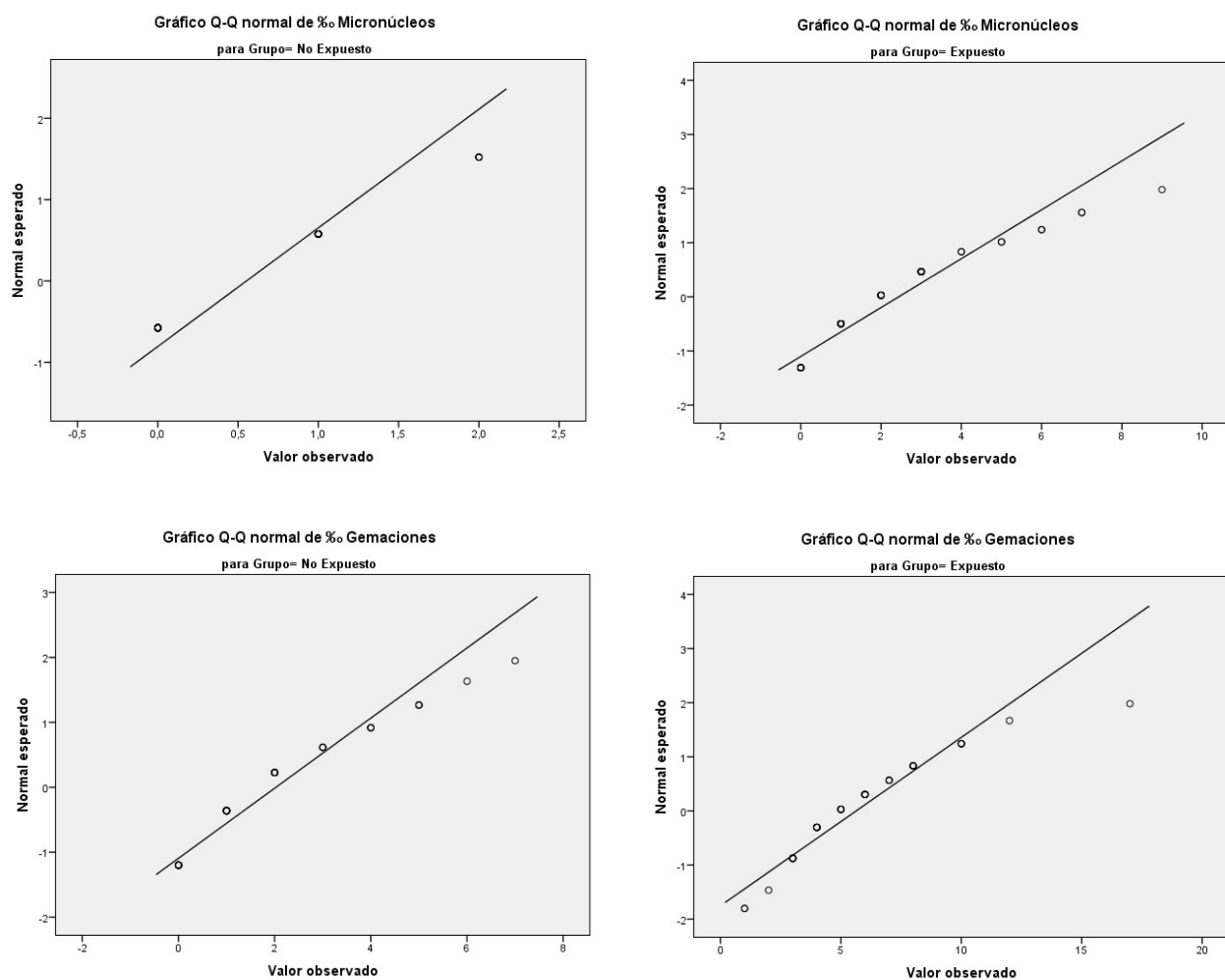
Tabla 4. Principales efectos durante el trabajo con formaldehído en trabajadores de laboratorios de anatomía patológica

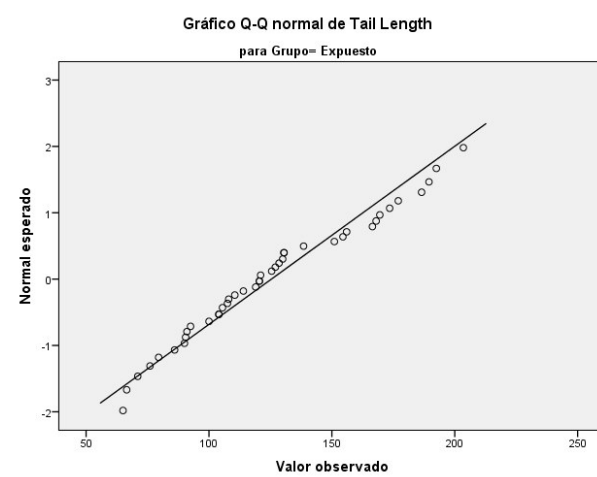
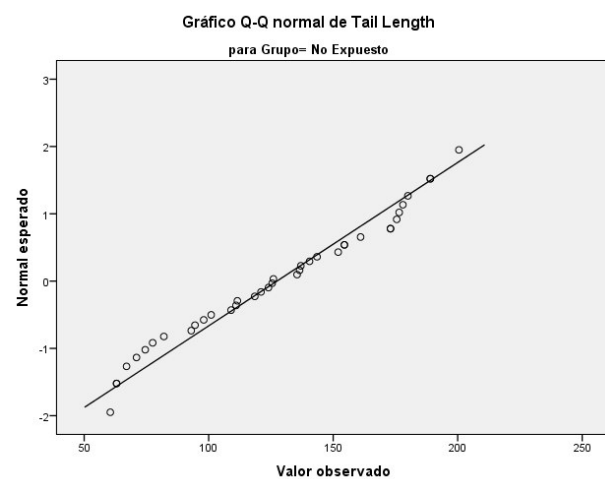
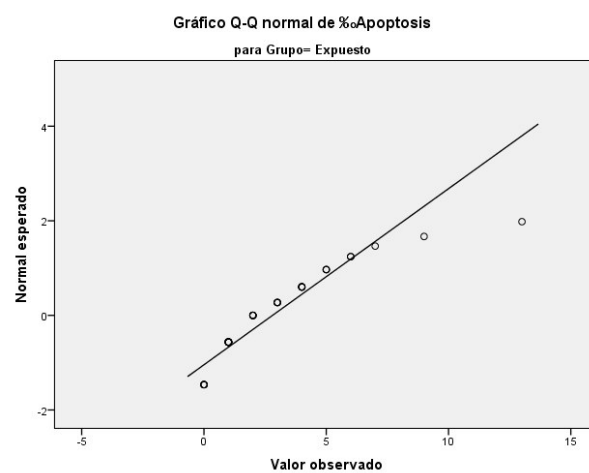
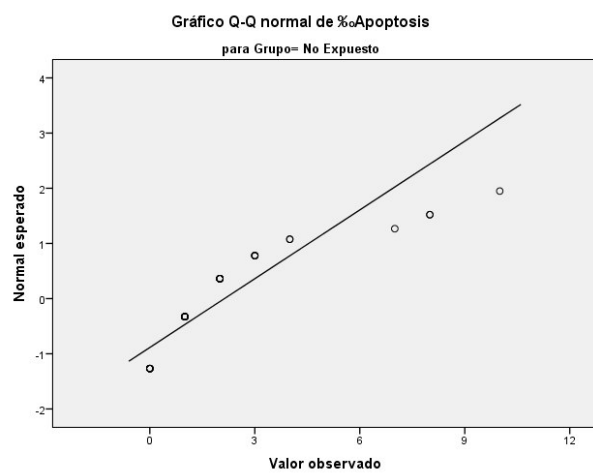
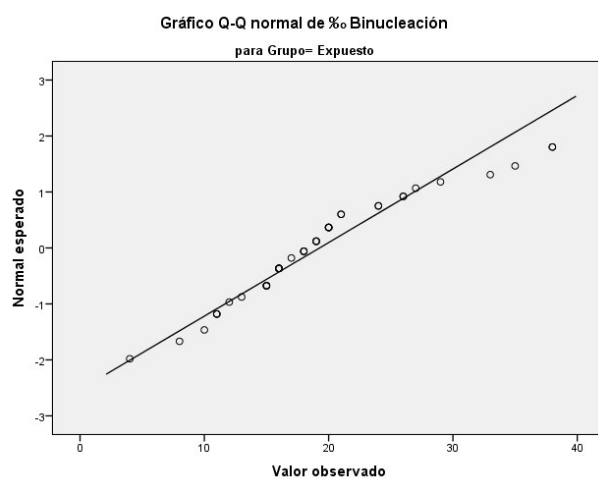
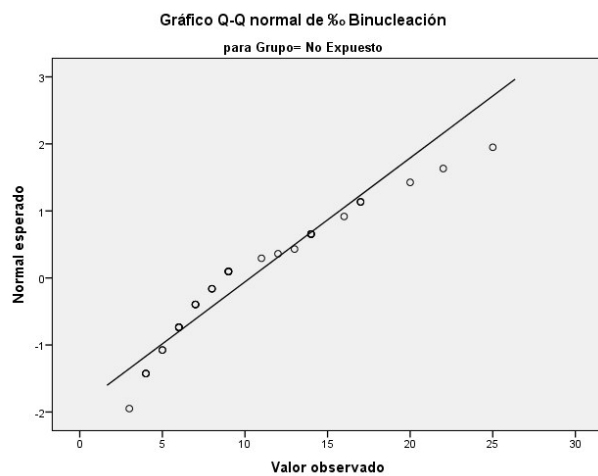
Complicaciones	N	
Rinitis	20	47.6%
Dermatitis	9	21.4%
Irritación ocular	8	19.0%
Bronquitis	6	14.3%
Cefalea	5	11.9%
Acidez estomacal	2	4.8%
Faringitis	1	2.4%
Somnolencia	1	2.4%

5.4. Pruebas de Normalidad

Previo al análisis comparativo entre los grupos de estudio, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para probar si los valores de las variables dependientes se ajustan o desvían de la distribución normal.

En el **Figura 8** se resumen las distribuciones de datos para cada variable dependiente. Se observó que las variables micronúcleos, gemaciones, binucleaciones, apoptosis, tail intensity y tail moment se desviaron significativamente de la distribución normal ($p < 0.05$) en ambos grupos de estudio; mientras que la variable tail length se ajustó a la distribución normal para ambos grupos ($p = 0.171$ y $p = 0.138$ respectivamente).





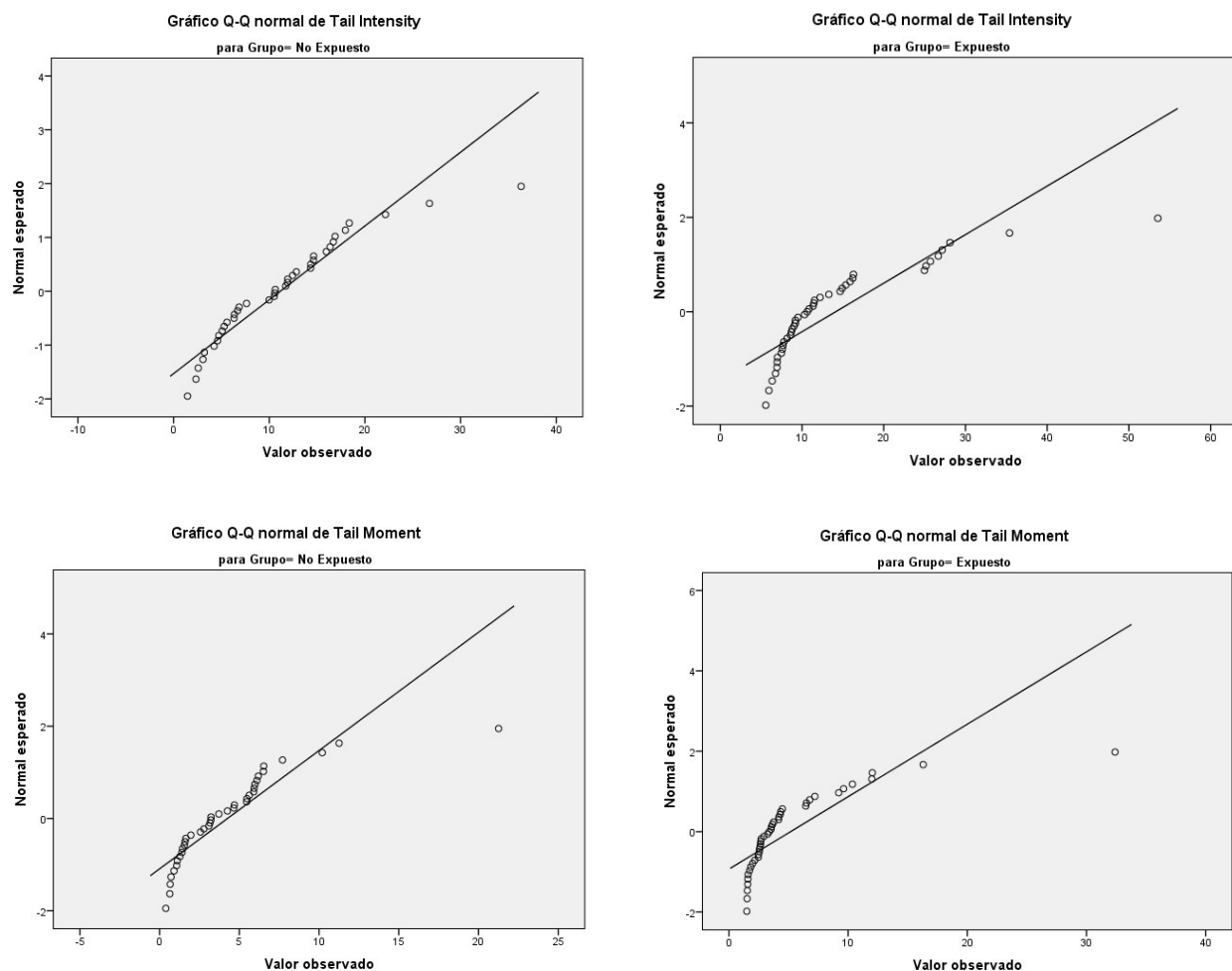


Figura 8. Distribución de las variables dependientes

5.5. Evaluación del daño genotóxico local y exposición a formaldehído

La evaluación del daño genotóxico local, medido a través de la test de micronúcleos y anomalías nucleares en células epiteliales bucales, entre el grupos de expuestos y no expuestos, fue realizado empleando la prueba U de Mann-Whitney y se resume en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Daño genotóxico local en expuestos y no expuestos

	No Expuestos	Expuestos	valor p*
Micronúcleos (‰)			
Mediana	0.0	2.0	< 0.01
Rango	0-2	0-9	
Gemaciones (‰)			
Mediana	1.5	5.0	< 0.01
Rango	0-7	1-17	
Binucleaciones (‰)			
Mediana	9.0	18.0	< 0.01
Rango	3-25	4-38	
Apoptosis (‰)			
Mediana	1.0	2.0	0.135
Rango	0-10	0-13	

* prueba U de Mann-Whitney

Las **Figuras 9, 10 11, 12** muestran el daño genotóxico local en los grupos expuestos y no expuestos. Se encontró que los trabajadores expuestos a formaldehído presentan una frecuencia de micronúcleos, gemaciones y binucleaciones significativamente mayor que los trabajadores no expuestos ($p < 0.01$). Por otro lado, no hubo diferencias significativas en el índice de apoptosis entre ambos grupos estudio ($p = 0.135$).

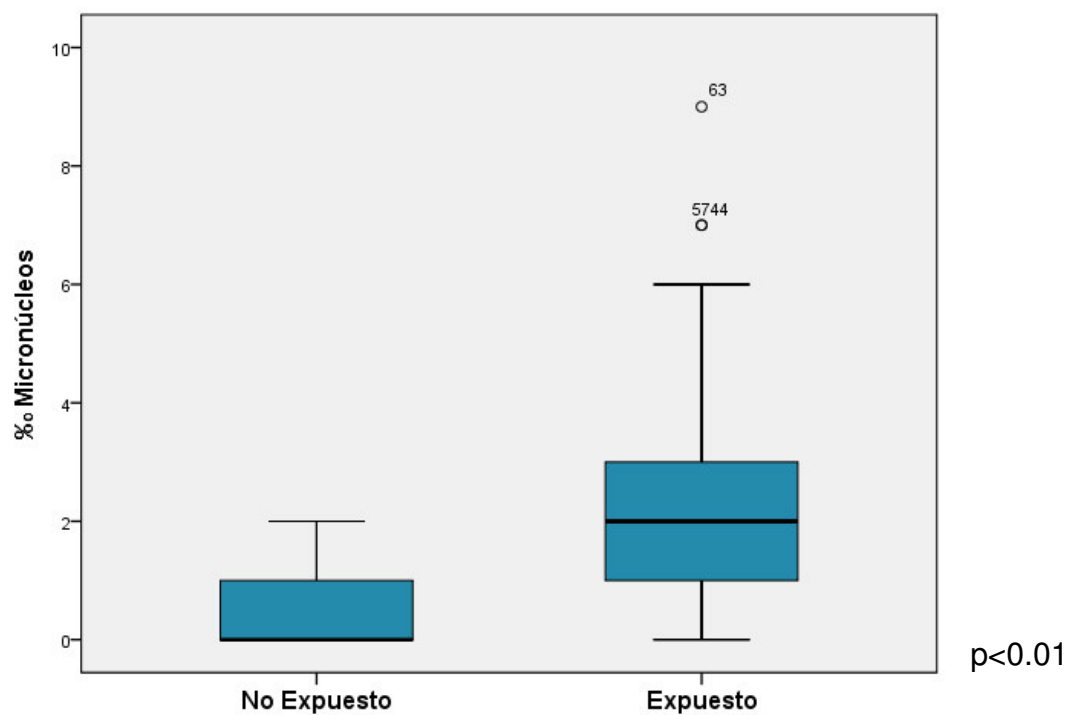


Figura 9. Frecuencia de micronúcleos en expuestos y no expuestos

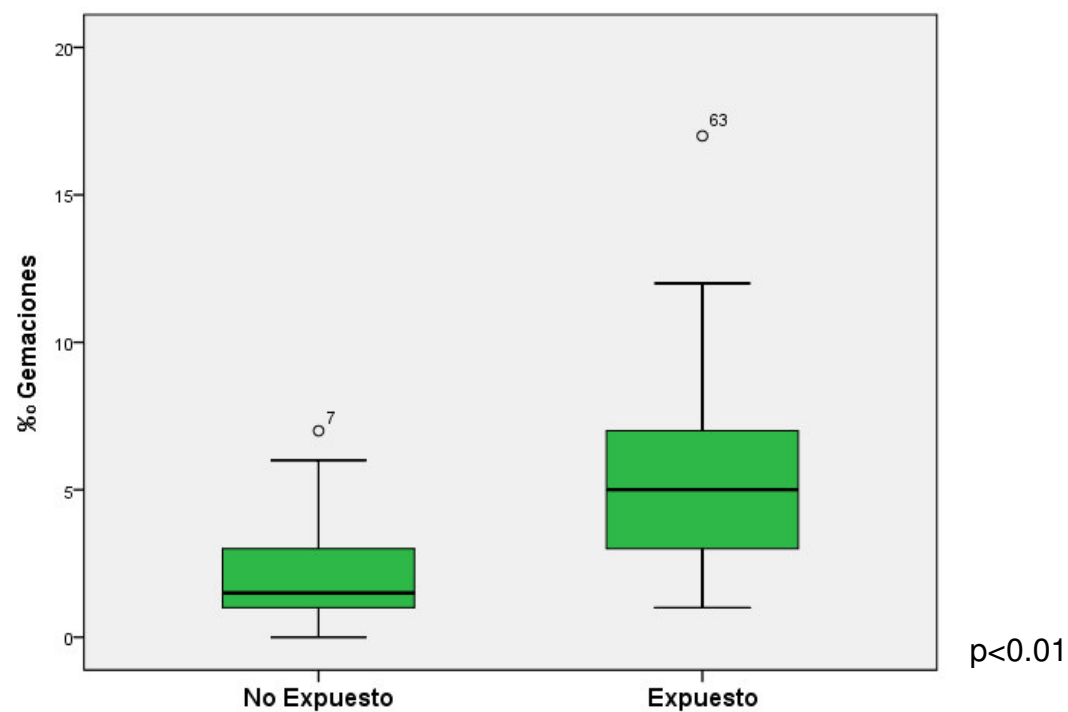


Figura 10. Frecuencia de gemaciones en expuestos y no expuestos.

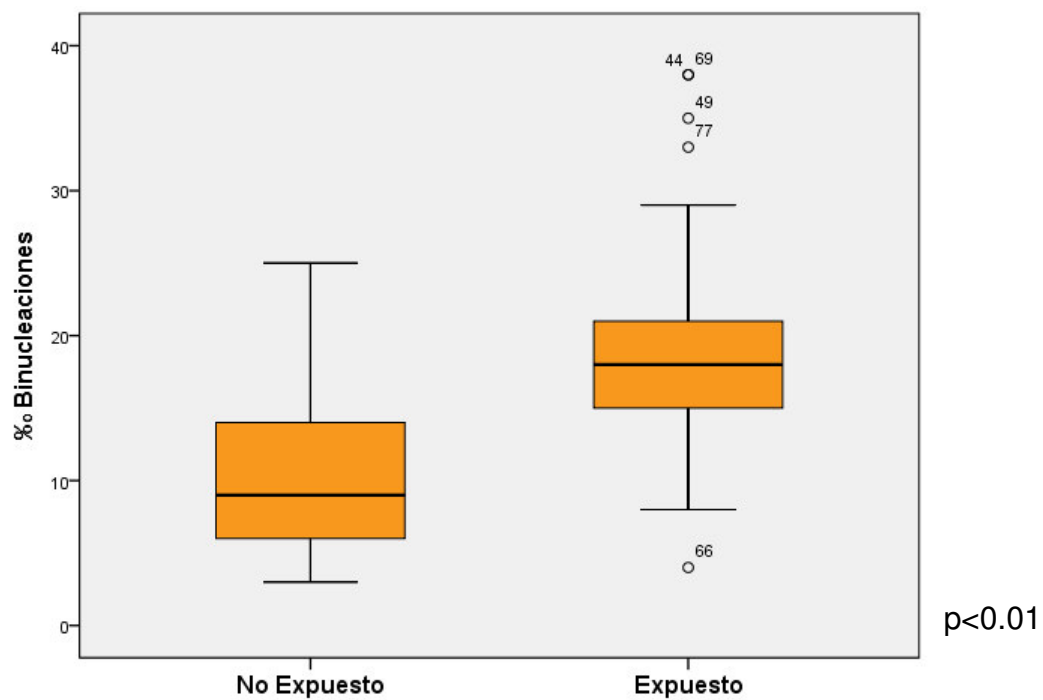


Figura 11. Frecuencia de binucleaciones en expuestos y no expuestos

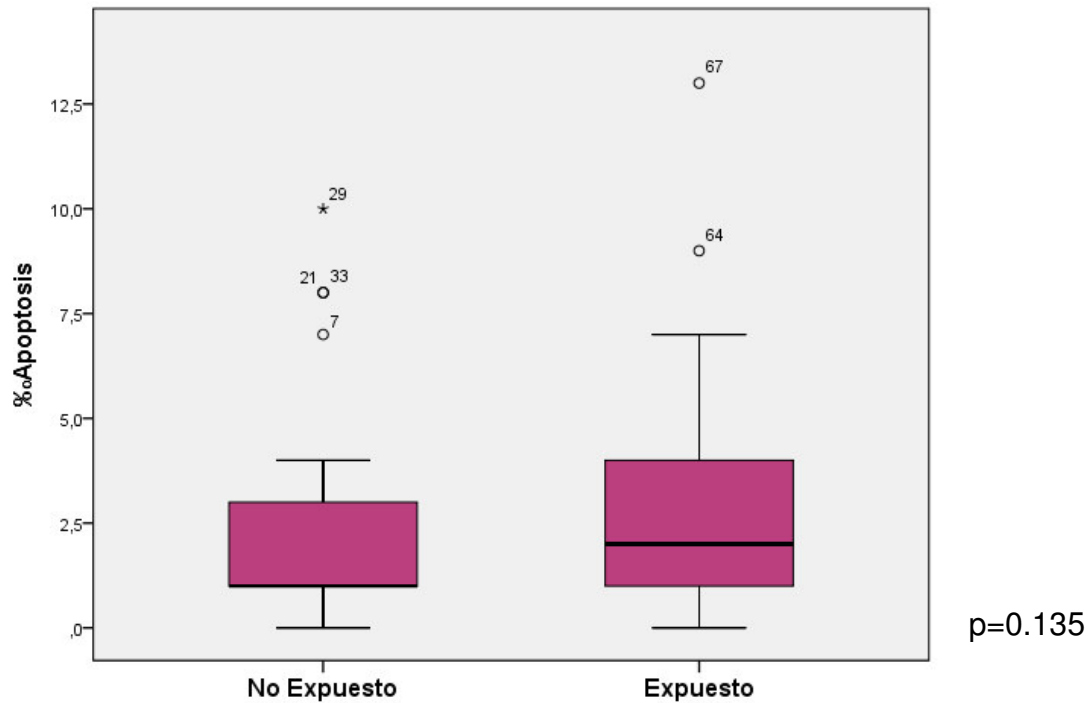


Figura 12. Índice de Apoptosis en expuestos y no expuestos

5.6. Evaluación del daño genotóxico sistémico y exposición a formaldehído

La evaluación del daño genotóxico sistémico, medido a través del ensayo cometa en linfocitos de sangre capilar, entre los grupos expuestos y no expuestos, fue realizado empleando la prueba t de student para muestras independientes (variable tail length) y U de Mann-Whitney (variables tail intensity y tail moment). Los resultados se resumen en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Daño genotóxico sistémico en expuestos y no expuestos.

	No Expuestos	Expuestos	valor p
Tail Length			
Media	127.4	125.4	0.821 ^a
DS	41.2	37.3	
Tail Intensity			
Mediana	10.6	10.7	0.179 ^b
Rango	1.5-36.4	5.6-53.5	
Tail Moment			
Mediana	3.2	3.4	0.388 ^b
Rango	0.4-21.3	1.5-32.4	

DS: Desviación estándar

a. prueba t de student

b. prueba U de Mann-Whitney

Las **Figuras 13, 14, 15** muestran el daño genotóxico sistémico en los grupos de estudio. No se encontró diferencias significativas en tail length, tail intensity y tail moment entre los trabajadores expuestos y no expuestos ($p>0.05$).

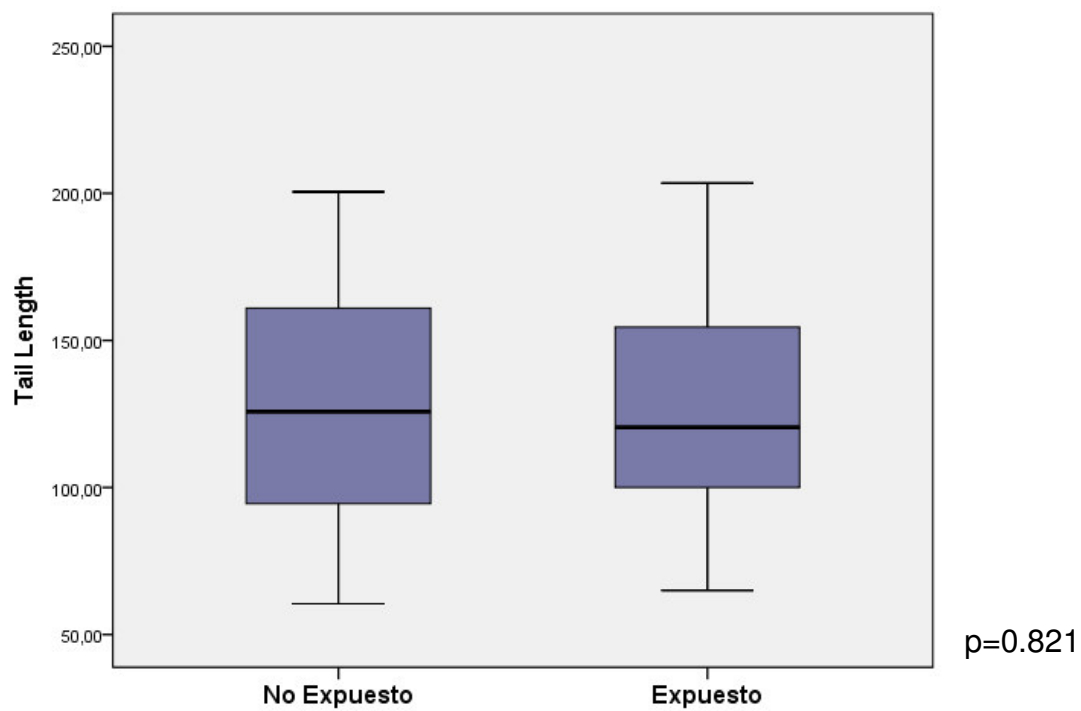


Figura 13. Tail length en expuestos y no expuestos

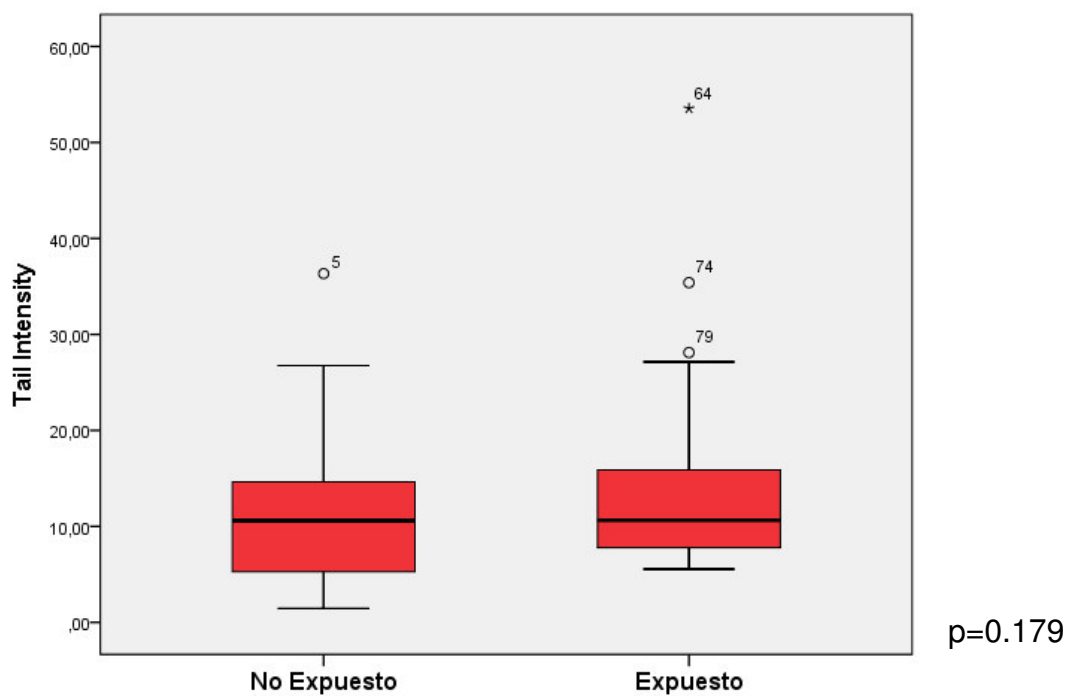


Figura 14. Tail intensity en expuestos y no expuestos

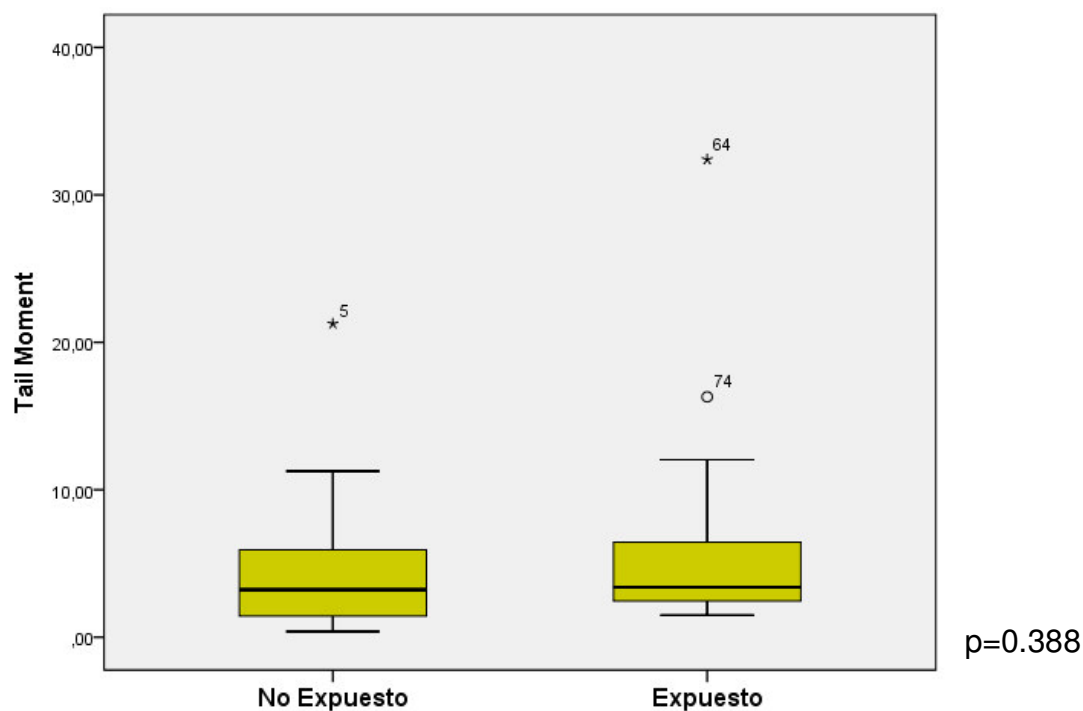


Figura 15. Tail moment en expuestos y no expuestos

5.7. Evaluación del daño genotóxico local y variables intervinientes

Se realizó el análisis comparativo entre el daño genotóxico local y las variables intervinientes, a fin de evaluar la influencia de éstas últimas sobre las variables dependientes; se empleó la prueba U de Mann Whitney para las variables que asumen 2 categorías y la prueba H de Kruskal Wallis para variables que asumen más de 2 categorías.

El análisis estadístico para la variable sexo no mostró diferencias significativas entre las frecuencias de micronúcleos, gemaciones, binucleaciones e índice de apoptosis de hombres y mujeres. **Figura 16.**

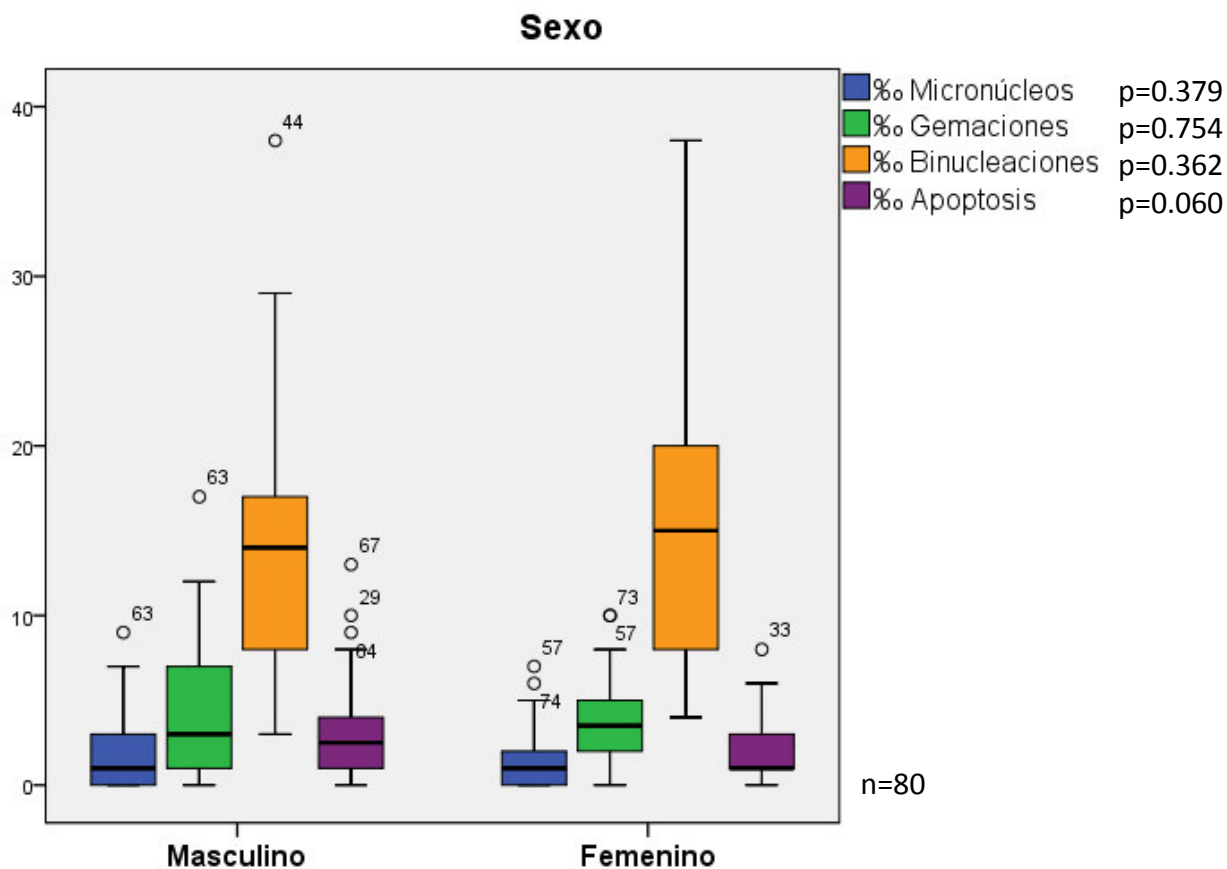


Figura 16. Daño genotóxico local según sexo

Para evaluar la influencia de la edad sobre el daño genotóxico, se estratificó a los individuos de estudio en tres categorías, tomando como puntos de cortes los percentiles 25 y 75: trabajadores menores de 30 años (Clase 1), trabajadores de 30 a 45 años (Clase 2) y trabajadores mayores de 45 años (Clase 3).

Se encontró diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de gemaciones de los trabajadores de clase 3 y clase 1, y entre los trabajadores de clase 3 y clase 2 ($p=0.005$ y $p=0.029$ respectivamente), hallándose las frecuencias más altas en la clase 3 (trabajadores mayores de 45 años). También se encontró diferencias significativas en la frecuencia de binucleaciones de los trabajadores de clase 3 y clase 1 ($p=0.010$), siendo la clase 3 más elevada. No se encontró

diferencias significativas entre las clases de edad para las demás variables.

Figura 17.

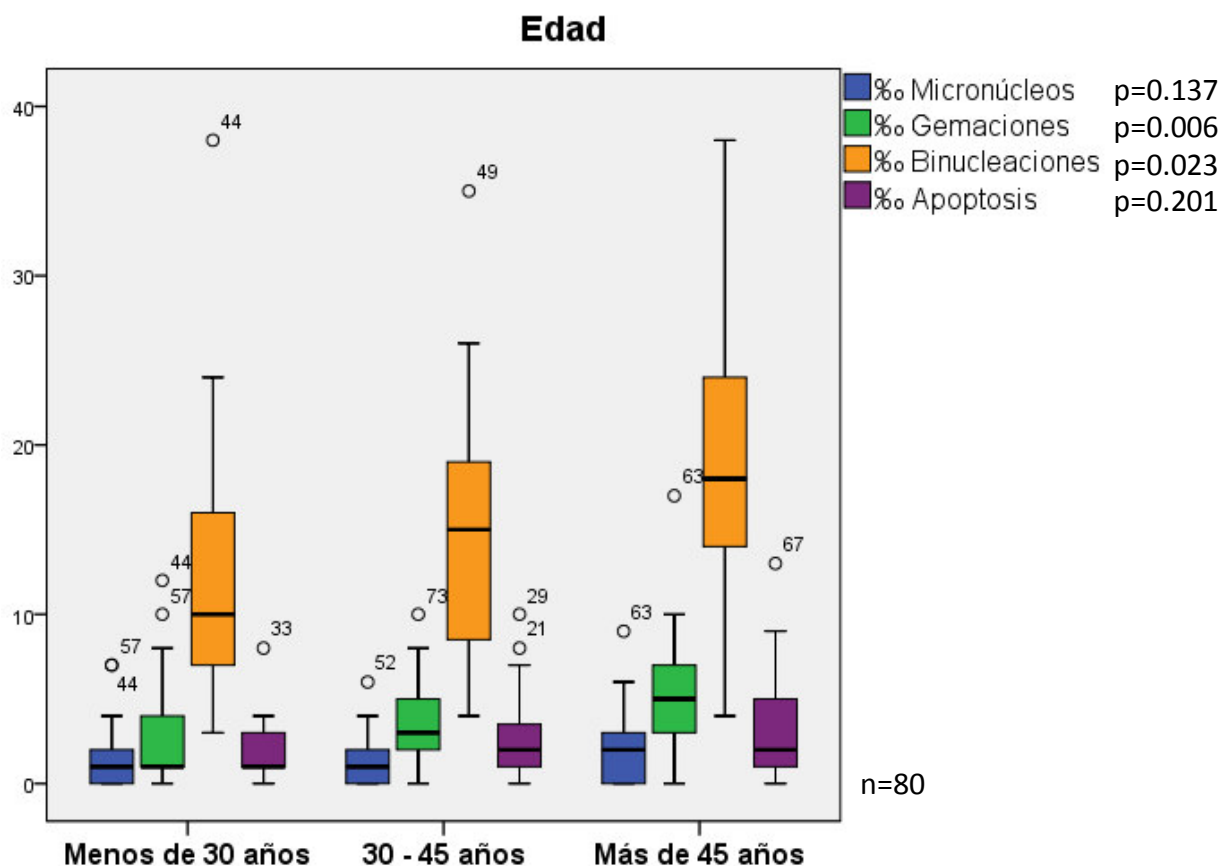


Figura 17. Daño genotóxico local según edad

No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los individuos que consumían medicamentos al momento del estudio, respecto a los que no consumían. **Figura 18.**

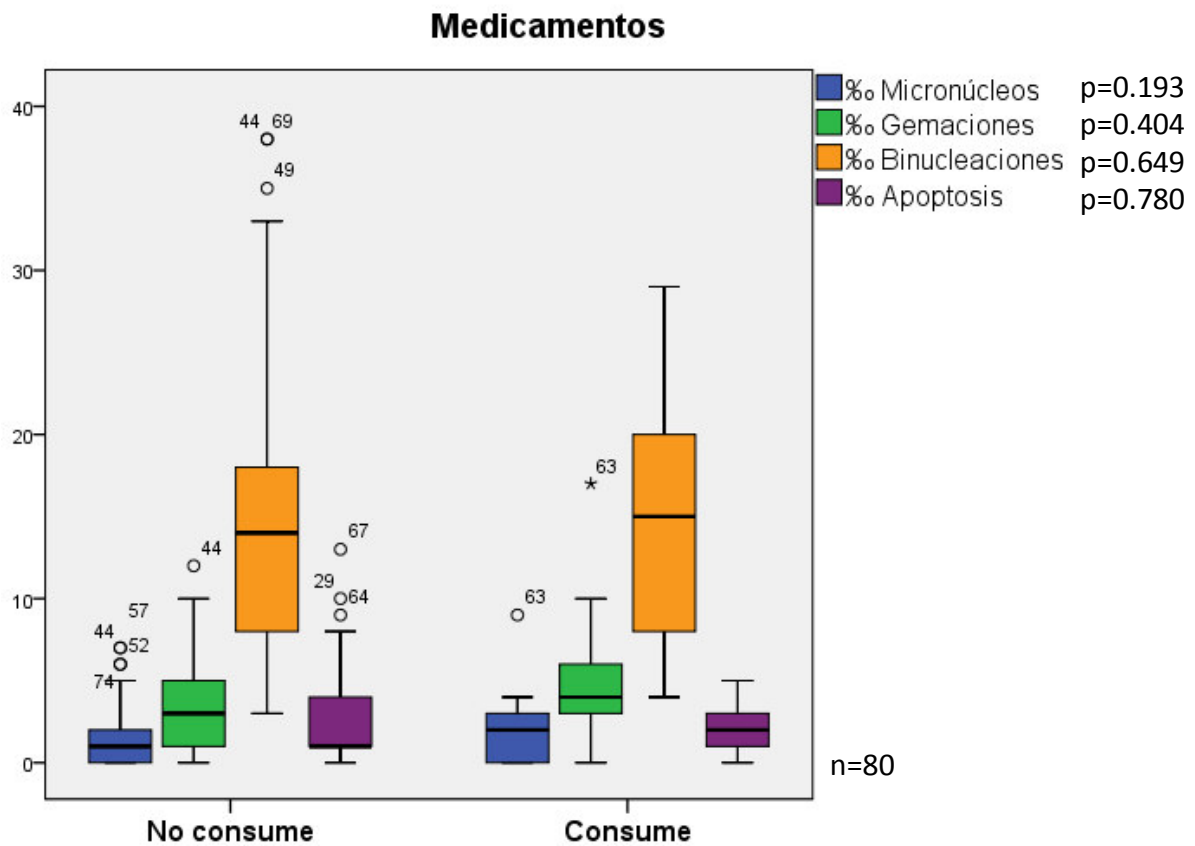


Figura 18. Daño genotóxico local según consumo de medicamentos

Para evaluar el efecto del tiempo de exposición (equivalente a años de trabajo con formaldehído) sobre los biomarcadores de genotoxicidad local estudiados, se establecieron tres categorías de acuerdo a los percentiles 25 y 75: Clase 1 (personas con menos de 3 años de trabajo) Clase 2 (personas con 3 a 16 años de trabajo) y Clase 3 (personas con más de 16 años de trabajo). Los resultados se grafican en la **Figura 19**.

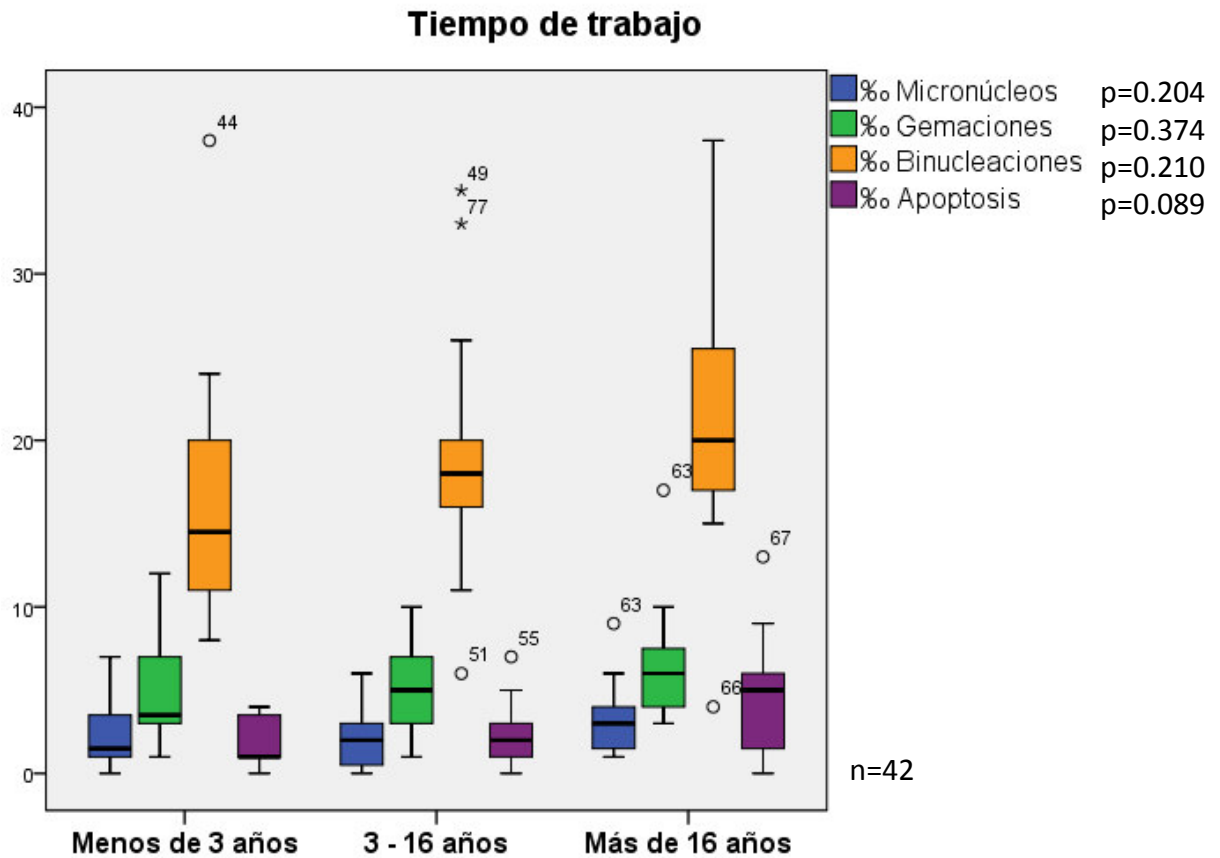


Figura 19. Daño genotóxico local según tiempo de trabajo

El análisis comparativo de las tres categorías según tiempo de trabajo, no mostró diferencias significativas en ninguno de los biomarcadores estudiados ($p > 0.05$).

De igual forma se establecieron tres categorías de acuerdo a los percentiles 25 y 75 para evaluar la frecuencia de exposición a formaldehído (expresada en horas/día) y el daño genotóxico local: Clase 1 (personas con exposición promedio menor a 2 h/día) Clase 2 (personas con exposición promedio de 2 a 6 h/día) y Clase 3 (personas con exposición mayor a 6 horas/día). Los resultados se grafican en la **Figura 20**.

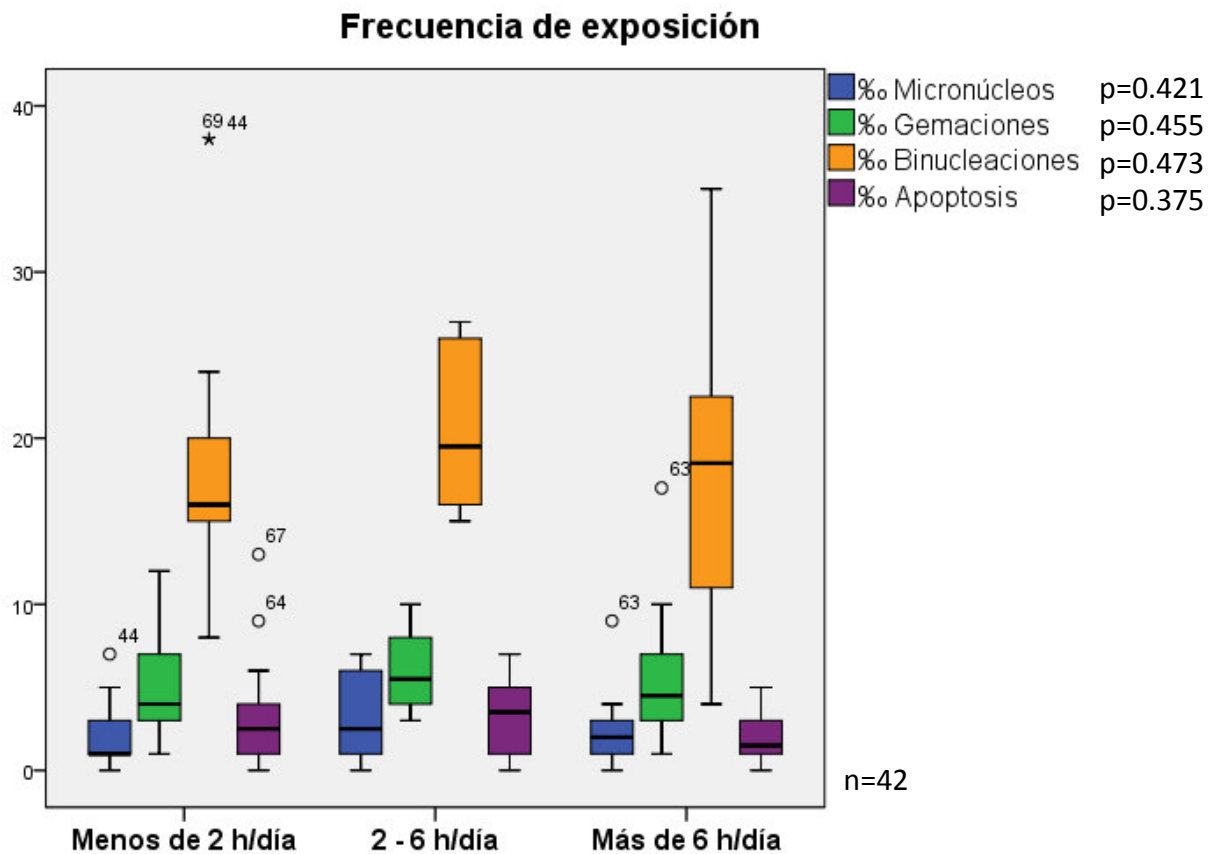


Figura 20. Daño genotóxico local según frecuencia de exposición

No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los biomarcadores de genotoxicidad local respecto a la frecuencia de exposición en el grupo de expuestos ($p > 0.05$).

Para el caso del uso de respirador para solventes orgánicos, tampoco fue hallada diferencias significativas entre los grupos que usan y no usan respirador ($p > 0.05$).

Figura 21.

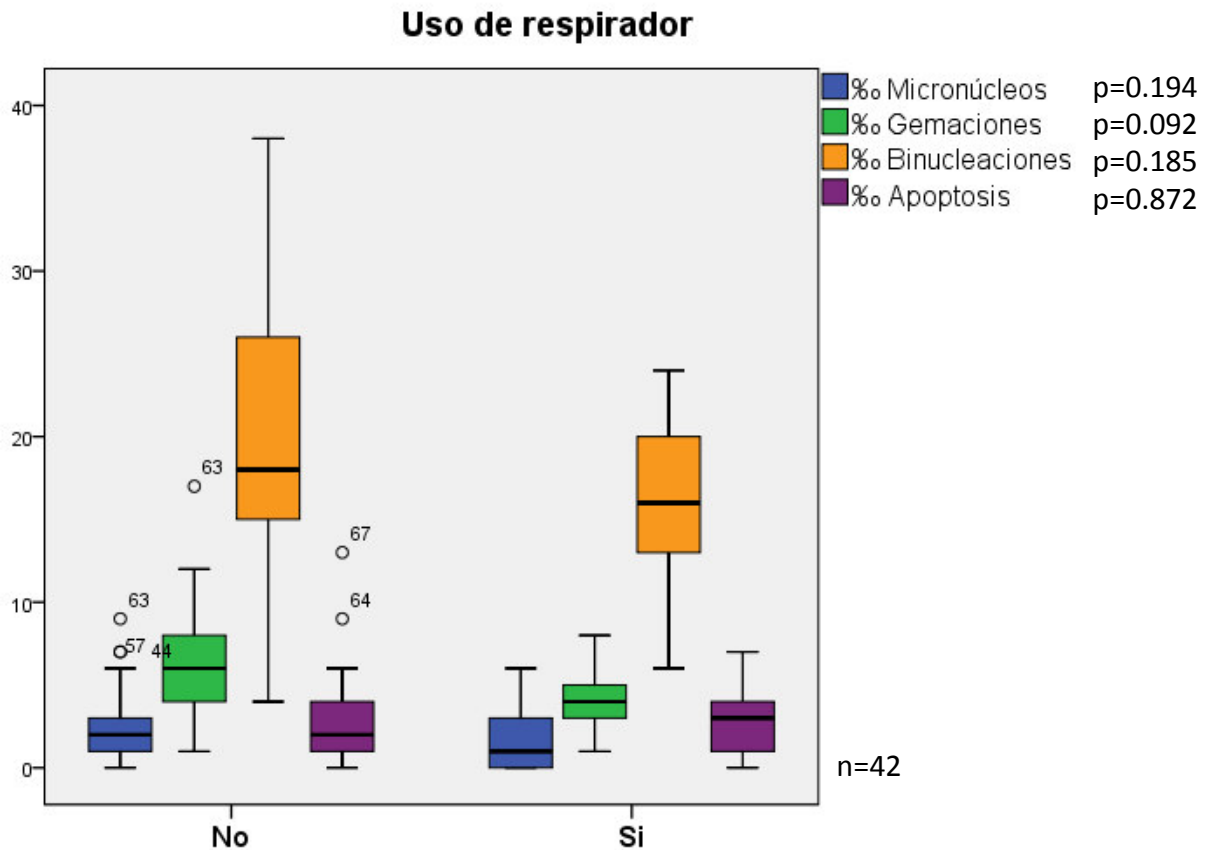


Figura 21. Daño genotóxico local según uso de respirador

Finalmente, para el caso de exposición a otros agentes, se encontró diferencias significativas en la frecuencia de micronúcleos entre los trabajadores que están expuestos a otros agentes genotóxicos respecto a los que sólo están expuestos a formaldehído ($p=0.037$), siendo la frecuencia de micronúcleos mayor en el primer grupo de estudio. **Figura 22.**

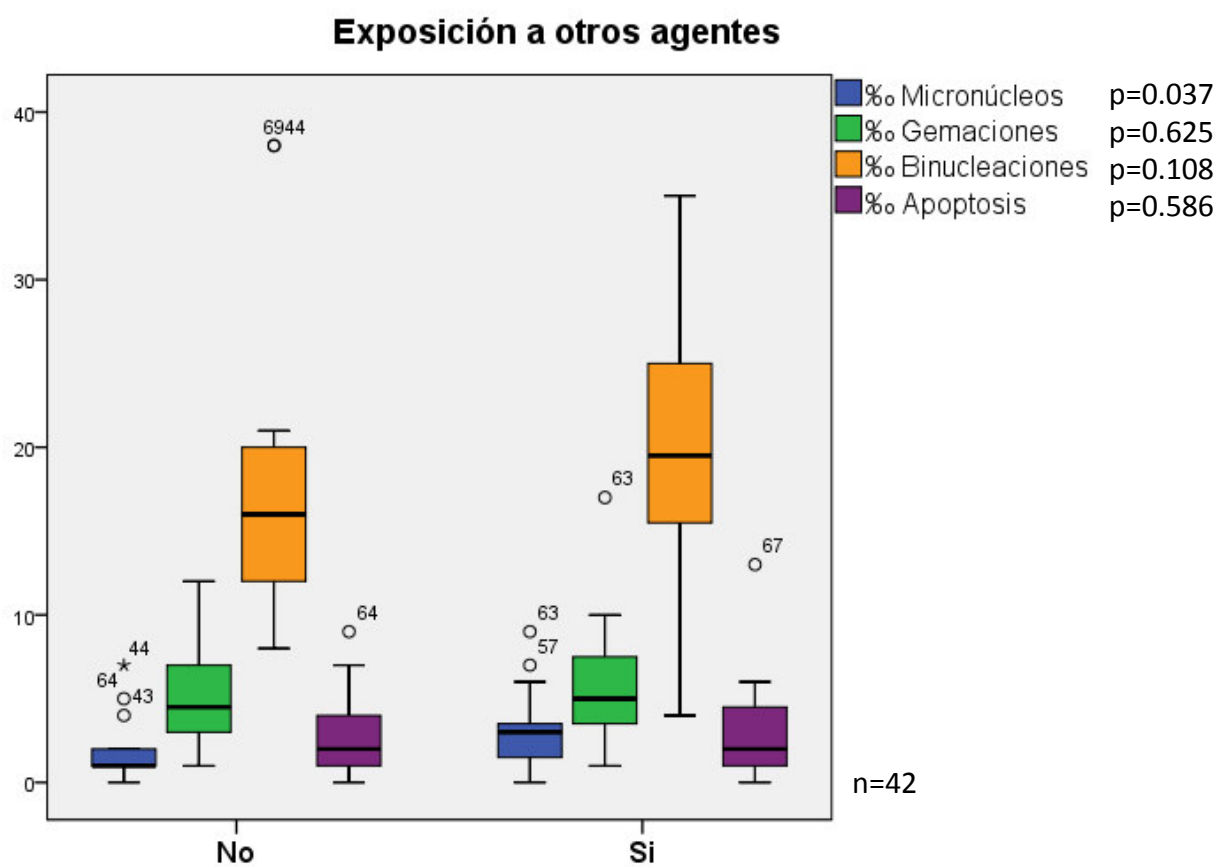


Figura 22. Daño genotóxico local según exposición a otros agentes

VI. DISCUSIÓN

Como se ha descrito antes, el formaldehído es un agente químico potencialmente cancerígeno en humanos, que se produce a gran escala y es utilizado rutinariamente en los laboratorios de anatomía patológica de todo el mundo. Su empleo copioso plantea una problemática en salud ocupacional, por lo que la monitorización ambiental y biológica en el entorno laboral adquiere mayor importancia, permitiendo evaluar los efectos potenciales en salud pública, especialmente en términos de incidencia o incremento del riesgo a cáncer.

El presente estudio evaluó, en primera instancia, el nivel de exposición ocupacional a formaldehído en tres importantes laboratorios de anatomía patológica de Lima, mediante el cálculo de la concentración ceiling para cada sede participante. Se encontró que el valor medio de exposición en la población fue de $0,96 \text{ mg/m}^3$ (valor mínimo = 0.311 mg/m^3 , valor máximo = 1.466 mg/m^3). Este valor indica que existe alta concentración de formaldehído presente en los ambientes de los laboratorios de patología en hospitales de Lima Metropolitana; siendo el valor límite permisible (TLV-ceiling) de $0,37 \text{ mg/m}^3$ ó 0.3 ppm (DIGESA, 2006)⁴⁸, queda evidenciado que los trabajadores de salud que ejercen su actividad en dichos centros, se encuentran expuestos a niveles elevados de formaldehído ambiental que superan el límite permitido y por lo tanto representan un grupo de alto riesgo ocupacional.

Los resultados descritos concuerdan con varios estudios internacionales que indican el alto riesgo de exposición ocupacional. Un estudio portugués reveló que la concentración media de formaldehído en laboratorios de anatomía patológica fue de 2.52 ppm (ceiling), superando ampliamente el valor límite permitido (Viegas et al, 2010)¹⁶. Otro estudio llevado a cabo en Túnez, evidenció que los trabajadores del servicio de patología de un hospital local estaban expuestos a una concentración media de 3.4 ppm de formaldehído (Bouraoui et al, 2013)¹⁷.

En Francia, Orsiere et al. (2006) reportó una concentración media de $2,0 \text{ ppm}$

(ceiling) de formaldehído ambiental en laboratorios de anatomía patológica²⁰; mientras que en Portugal, Costa et al. (2008) midió los niveles de exposición en 4 laboratorios, describiendo concentraciones desde 0.04 a 1.58 ppm (TWA-8h)¹⁵.

Los resultados aquí descritos muestran que, tanto los laboratorios de patología del Hospital Guillermo Almenara e Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas superaron los límites laborales permitidos para formaldehído (1.114 y 1.466 mg/m³ respectivamente); por otro lado, la concentración hallada en la Morgue Central de Lima no superó dicho límite (0.311 mg/m³), esto puede deberse principalmente a que dicha sede cuenta con una campana extractora destinada a las actividades de macroscopía y tallado de piezas quirúrgicas, lo cual disminuye significativamente la emisión de vapores en la zona de respiración del operador al momento de trabajo.

Como la determinación de la concentración ambiental fue realizada en el área de macroscopía y durante el tallado de piezas anatómicas conservadas en formol, los resultados también indicarían que el examen macroscópico es la tarea que implica la exposición a concentraciones más elevadas durante el trabajo; esto ocurre porque se requiere precisión y buena visibilidad, como consecuencia los operarios debe inclinarse sobre la muestra, con el consiguiente aumento de la proximidad a las fuentes de emisión del vapor. Estudios desarrollados indican que la proximidad a los especímenes impregnados promueve una mayor exposición^{1,22,23}.

Los efectos relacionados a la exposición se manifiestan principalmente a nivel de la vías aéreas superiores y a nivel ocular (efecto irritante), la gravedad de estos síntomas dependen de la concentración del compuesto que llega a los tejidos diana y a la susceptibilidad del individuo; sin embargo el efecto cancerígeno a largo plazo es de mayor preocupación. A través de los años se han realizado diferentes estudios que muestran una asociación entre la exposición a sustancias químicas genotóxicas (formaldehído en este caso) y el aumento del riesgo de cáncer^{2,4}. En este sentido, los biomarcadores de efecto han demostrado ser una

herramienta útil en el estudio de los cambios tempranos que ocurren antes del desarrollo de la enfermedad; éstas se centran principalmente en los biomarcadores de genotoxicidad, como las aberraciones cromosómicas, frecuencia de micronúcleos, intercambios de cromátides hermanas y ensayo cometa^{52,54}.

El presente estudio tuvo como objetivo principal determinar el daño genotóxico en trabajadores de laboratorios de anatomía patológica expuestos formaldehído, para esto, los biomarcadores de genotoxicidad empleados fueron la frecuencia de micronúcleos y alteraciones nucleares en células epiteliales bucales (la cual expresa daño a nivel local) y ensayo cometa en linfocitos de sangre capilar (la cual expresa daño a nivel sistémico). Los resultados de estos parámetros fueron comparados con un grupo control no expuesto al agente.

Respecto a la evaluación del daño genotóxico local, se encontró que los trabajadores expuestos a formaldehído presentaron una frecuencia de micronúcleos significativamente mayor en comparación con el grupo control ($p < 0,01$). Además se observó una elevada frecuencia de gemaciones y binucleaciones en el grupo de expuestos, las cuales también están relacionadas a eventos genotóxicos y citotóxicos locales ($p < 0,01$).

Los resultados de la presente investigación concuerdan con los estudios realizados por Viegas et al. (2010) que describió un aumento significativo en el daño genotóxico local, medido a través de la frecuencia de micronúcleos en células epiteliales bucales de trabajadores de laboratorios de patología¹⁶. Asimismo, Bouraoui et al. (2013) reportó que los trabajadores de laboratorios expuestos a elevadas concentraciones de formaldehído mostraban un incremento significativo en la frecuencia de micronúcleos¹⁷. Costa et al. (2011) evaluó el efecto genotóxico por exposición crónica a formaldehído en un grupo de trabajadores de patología mediante el test de micronúcleos y ensayo cometa, encontrando diferencias significativas en ambos marcadores, confirmando al final

una relación entre las alteraciones genéticas encontradas y la exposición ocupacional a formaldehído⁶⁴. En otro estudio Costa et al. (2008) empleó marcadores de efecto genotóxico como intercambio de cromátides hermanas, test de micronúcleos y ensayo cometa, su población fue igualmente trabajadores con exposición de largo plazo de cuatro servicios de anatomía patológica. Los resultados mostraron efectos genotóxicos significativamente elevados en el grupo de expuestos en todos los biomarcadores empleados ($p < 0,003$)¹⁵. Otro estudio publicado en 2006 sobre el efecto genotóxico del formaldehído en 59 profesionales de patología, evidenció también un aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos, en comparación con el grupo control. Orsière et al. (2006)²⁰.

En los estudios de biomonitorización de poblaciones ocupacionalmente expuestas a agentes tóxicos, es necesario estudiar la interferencia de algunas características de la población, tales como la edad, el sexo, la duración de la exposición, los hábitos de fumar y/o beber alcohol, entre otras; debido a que pueden influenciar en los biomarcadores de efecto genotóxico.

Varios estudios han revelado que las mujeres presentan mayor frecuencia de micronúcleos que los varones. La influencia del sexo en la frecuencia de micronúcleos atribuye este aumento en las mujeres a eventos aneugénicos que involucran la inactivación del cromosoma X, aunque la explicación de este fenómeno aún no se entiende completamente¹¹.

En el presente estudio, el análisis estadístico por tipo de sexo no mostró diferencias significativas entre hombres y mujeres respecto a la frecuencia de micronúcleos y anormalidades nucleares; este hallazgo puede atribuirse a la distribución equitativa de géneros, en donde no se encontró diferencias significativas en el número total de hombres y mujeres en cada grupo de estudio.

La frecuencia de micronúcleos tiende a aumentar con la edad, debido al aumento progresivo de la inestabilidad cromosómica espontánea, pérdida de eficiencia de los mecanismos de reparación del ADN y la aparición de defectos en el sistema de defensa celular, lo que da como resultado la acumulación de lesiones genéticas durante el proceso de envejecimiento. De hecho varios estudios han reportado un mayor incremento en el índice de micronúcleos y otros marcadores de genotoxicidad en relación al aumento de la edad^{2,16,20}.

En relación a la edad y el daño genotóxico local, nuestro estudio encontró que existe una mayor frecuencia de gemaciones y binucleaciones en el subgrupo de personas con mayor edad. Para el análisis de esta variable, se procedió a la creación de tres grupos de edad, clase 1 (<30 años), Clase 2 (30--45 años) y Clase 3 (>45 años). De este modo, fue posible verificar la existencia de un aumento significativo de gemaciones de la clase 1 a la clase 3 y de la clase 2 a la clase 3, además de un aumento significativo de binucleaciones de la clase 1 a la clase 3, lo que demuestra que las personas con más edad tienen un mayor daño genético acumulado en comparación con los individuos más jóvenes.

El humo del tabaco tiene una amplia gama de agentes químicos nocivos para la salud. Hay varios estudios que señalan la influencia del tabaquismo sobre alteraciones citogenéticas. Los actuales estudios muestran que los fumadores tienen una frecuencia de micronúcleos más alta cuando se compara con los no fumadores, debido a las sustancias mutagénicas y cancerígenas presentes en el humo del tabaco, capaces de causar daño al ADN y que están ligadas a una elevada incidencia de varios tipos de cáncer. Por lo tanto, fumar es una variable importante a considerar en los estudios de biomonitorización, y particularmente en este estudio, ya que el formaldehído está presente en el humo del tabaco. De la misma manera, existen estudios que vinculan el consumo de alcohol con cambios displásicos en la mucosa bucal y aumento del estrés oxidativo orgánico, los cuales guardan estrecha relación con eventos genotóxicos^{9,65,66}.

En el presente estudio fueron excluidos, tanto del grupo de expuestos y no expuestos, aquellos individuos que mostraron tener hábitos tabáquicos, definido como el consumo de 1 o más cigarrillos por día, y hábitos alcohólicos, definido como el consumo de bebidas alcohólicas 3 o más veces por semana, evitando así cualquier tipo de sesgo o influencia sobre los resultados.

El análisis estadístico en relación al tiempo de exposición (expresado en años de trabajo con formaldehído), frecuencia de exposición (expresado en horas diarias trabajando con formaldehído) y la frecuencia de micronúcleos y anormalidades nucleares mostraron no tener influencia sobre el daño genotóxico local. Estos datos pueden ser explicados por la ocurrencia de procesos de adaptación de los mecanismos de reparación del cuerpo debido a la continua exposición a agentes genotóxicos¹⁵. Esta capacidad de adaptación es un tema ampliamente abordado; estudios han observado que después de exposiciones continuas a dosis bajas de agentes químicos o radiación ionizante, el cuerpo puede llegar a ser menos susceptible a los efectos genotóxicos, no evidenciando aumento del daño a dosis mayores y prolongadas del mismo agente⁶⁷.

Por otro lado, el presente estudio pudo evidenciar la influencia de la exposición a otros agentes químicos en el laboratorio. Se encontró que, dentro del grupo de trabajadores expuestos a formaldehído, aquellos que utilizan otras sustancias químicas, presentan mayor frecuencia de micronúcleos respecto a los que trabajan sólo con formaldehído ($p < 0.05$). Este hallazgo indica la influencia de la mezcla de sustancias químicas potencialmente genotóxicas presentes en los laboratorios, sobre el daño genético inducido. Además, tomando en cuenta que el 57.1% de los trabajadores expuestos a formaldehído, declaró también estar expuesto a xileno, compuesto de uso rutinario que posee actividad genotóxica, mutagénica y cancerígena comprobada, quedaría también en evidencia el riesgo ocupacional por exposición a xileno en los profesionales de patología.

Si bien muchos estudios han demostrado la capacidad genotóxica y mutagénica del formaldehído en la mucosa bucal y respiratoria superior (primeros sitios de contacto) en animales de experimentación y poblaciones humanas expuestas; en relación a la genotoxicidad sistémica, no se han encontrado evidencias contundentes de demuestren la presencia de daño en sitios distantes al contacto (sangre periférica o medula ósea) cuando se realizan estudios con animales de experimentación^{7,8}. Sin embargo, existen varios estudios que han reportado un incremento del daño genético en células sanguíneas de sujetos expuestos laboralmente, por lo que sigue siendo un tema controvertido afirmar si el formaldehído induce genotoxicidad a nivel sistémico^{15,19,64}.

En relación a la evaluación del daño genotóxico sistémico, medido a través del ensayo cometa en linfocitos de sangre capilar, el presente estudio no encontró evidencias si la exposición a formaldehído genera daño sistémico, debido a que ninguno de los parámetros del ensayo cometa mostró diferencias significativas respecto al grupo control ($p > 0.05$).

Estos resultados concuerdan con los hallazgos realizados por Zeller et al. (2011) y Aydin et al. (2013), quienes concluyen que los efectos genotóxicos inducidos por la exposición a formaldehído no generan daño sistémico. Estudios experimentales han demostrado que la exposición de células a formaldehído genera reducción, y no aumento, de la migración del ADN en el ensayo cometa. Este efecto se explica por el hecho de que el formaldehído induce principalmente entrecruzamientos ADN-proteína y estas moléculas tienen la capacidad de reducir la migración del ADN en una corrida electroforética^{67,68}.

Por otro parte, los efectos generados por la exposición ocupacional a formaldehído se dan principalmente por el contacto permanente y a largo plazo; es decir, que sus efectos a nivel genético se producen debido a exposiciones crónicas. En este sentido, es importante recordar que para que se evidencien cambios significativos en la cola de los cometas, los linfocitos deben haber

almacenado suficiente daño en el ADN al momento en que se realiza la toma de muestra; además, teniendo en cuenta que los entrecruzamientos ADN-proteína inducidos por formaldehído son eliminados rápida y constantemente por los mecanismos de reparación génica de los linfocitos, el empleo del ensayo cometa no sería muy adecuado para evaluar el daño genotóxico crónico, sino que resulta más útil en la evaluación del daño genético de exposiciones agudas⁶⁷.

Otra importante consideración a tomar en cuenta en la presente investigación es que los linfocitos obtenidos, a diferencia de otros estudios, fueron aislados a partir de sangre capilar, esto se debió principalmente a la baja aceptación de los participantes. Además, no hemos encontrado estudios de biomonitorización en la literatura científica que hayan evaluado el daño genotóxico por ensayo cometa en linfocitos de sangre capilar, por lo que no podemos asegurar que estas células sean igual de representativas que los linfocitos de sangre periférica.

A pesar de ello, según nuestros resultados y acorde con las estimaciones de la toxicocinética del formaldehído, este estudio mostró que los efectos genotóxicos inducidos por formaldehído no generan daño en sitios distantes; sin embargo, nuevos intentos son necesarios para una mejor evaluación y comprensión del riesgo ocupacional, empleando más biomarcadores de relevancia epidemiológica.

VII. CONCLUSIONES

- Existe daño genotóxico elevado en trabajadores expuestos a formaldehído de tres laboratorios de anatomía patológica de Lima Metropolitana.
- Los trabajadores de laboratorios de anatomía patológica están expuestos a altas concentraciones de formaldehído presentes en el ambiente de trabajo, que superan el valor límite permisible establecido a nivel nacional.
- Los trabajadores expuestos a formaldehído presentan daño genotóxico local significativamente mayor que los trabajadores no expuestos, evidenciado por el incremento en la frecuencia de micronúcleos, gemaciones y binucleaciones en células epiteliales bucales.
- No se encontró daño genotóxico sistémico en trabajadores expuestos a formaldehído, debido a que ninguno de los parámetros del ensayo cometa en linfocitos fue estadísticamente diferente al grupo de no expuestos.
- Los trabajadores con mayor edad presentaron mayor daño genotóxico local, en comparación con los trabajadores de menor edad, lo que indica la influencia del daño genético acumulativo por envejecimiento.
- Los trabajadores con exposición a otros compuestos químicos presentan mayor daño genotóxico local, en comparación con aquellos que están expuestos sólo a formaldehído, lo que indica que la exposición a otras sustancias genotóxicas presentes en el laboratorio influyen en el nivel de genotoxicidad de la población.

- No se encontró influencia del sexo, consumo de medicamentos, tiempo de trabajo, frecuencia de exposición y uso de respiradores para solventes orgánicos sobre el daño genotóxico local.
- El test de micronúcleos y anormalidades nucleares demostraron ser biomarcadores útiles en la evaluación de daños genéticos causados por exposición a agentes genotóxicos.
- Los micronúcleos son un indicador temprano de la evolución de patologías oncológicas, lo que pone de manifiesto el riesgo de desarrollar cáncer por parte de los trabajadores de laboratorios de anatomía patológica.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar nuevos estudios en más centros de salud a nivel nacional, incluyendo laboratorios de hospitales que manejan grandes volúmenes de muestras y carecen de suficientes medidas de prevención, lo que permitirá reflejar mejor la real situación de riesgo ocupacional.
- Aumentar el tamaño de la muestra, a fin de controlar la variabilidad genética entre los grupos de estudio.
- Evaluar el daño genotóxico y mutagénico inducido por exposición a formaldehído empleando no solo biomarcadores de efecto, sino también biomarcadores de susceptibilidad.
- Realizar estudios de monitoreo ambiental para formaldehído de manera individual durante jornadas estándar de trabajo de 6 horas u 8 horas.
- Implementar un programa integral de control de riesgos para formaldehído en los laboratorios de anatomía patológica, el cual debe incluir instalación de sistemas eficientes de ventilación y extracción de aire (cabinas de seguridad), uso de equipos de protección personal (EPP), capacitación del personal de salud y un programa de vigilancia epidemiológica.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Caldes A, Juan A, Mesquida M, Ferriol M, Amoros B. Estudio longitudinal de la exposición a formaldehído en el Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Son Dureta. *Rev Asoc Esp Espec Med Trab.* 2009; 18: 23-29.
2. IARC. Formaldehyde. En *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol.* vol. 88. Lyon: IARC; 2006. p.39-325.
3. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Formaldehyde [en línea]. Georgia: ATSDR; 1999 [citado 2 May 2013]. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp111.pdf>
4. National Toxicology Program. Formaldehyde. 12th Report on Carcinogens. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services. 2011; 12: 195–202.
5. Kitaeva LV, Kitaev EM, Pimenova MN. The cytopathic and cytogenetic effects of chronic inhalation of formaldehyde on germ and marrow cells of the female rat. *Tsitologiya.* 1990; 32, 1212–1216.
6. Im H, Oh E, Mun J, Khim JY, Lee E, Kang HS, et al. Evaluation of toxicological monitoring markers using proteomic analysis in rats exposed to formaldehyde. *J Proteome Res.* 2006; 5(6): 1354-1366.
7. Dallas CE, Scott MJ, Ward JB Jr, Theiss JC. Cytogenetic analysis of pulmonary lavage and bone marrow cells of rats after repeated formaldehyde inhalation. *J Appl Toxicol.* 1992; 12(3): 199-203.
8. Speit G, Zeller J, Schmid O, Elhajouji A, Ma-Hock L, Neuss S. Inhalation of formaldehyde does not induce systemic genotoxic effects in rats. *Mutat Res.* 2009; 677(1-2):76-85

9. Gluck U, Gebbers JO. The comet assay of nasal epithelia: measurement of DNA damage for the assessment of genotoxic air pollution. *Laryngoscope*. 2000; 110: 123–125.
10. Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, et al. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc*. 2009; 4(6): 825–837.
11. Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat Res*. 2008; 659, 93–108.
12. Suruda A, Schulte P, Boeniger M, Hayes RB, Livingston GK, Steenland K, et al. Cytogenetic effects of formaldehyde exposure in students of mortuary science. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1993; 2:453–460.
13. Titenko-Holland N, Levine AJ, Smith MT, Quintana PJ, Boeniger M, Hayes R, et al. Quantification of epithelial cell micronuclei by fluorescence in situ hybridization (FISH) in mortuary science students exposed to formaldehyde. *Mutat Res*. 1996; 371: 237–248.
14. Knasmueller S, Holland N, Wultsch G, Jandl B, Burgaz S, Misík M, et al. Use of nasal cells in micronucleus assays and other genotoxicity studies. *Mutagenesis*. 2011; 26:231-8.
15. Costa S, Coelho P, Costa C, Silva S, Mayan O, Santos LS, et al. Genotoxic damage in pathology anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde. *Toxicology*. 2008; 252(1-3): 40-48.
16. Viegas S, Ladeira C, Nunes C, Malta-Vacas J, Gomes M, Brito M, et al. Genotoxic effects in occupational exposure to formaldehyde: A study in anatomy and pathology laboratories and formaldehyde-resins production. *J Occup Med Toxicol*. 2010; 5:25

17. Bouraoui S, Mougou S, Brahem A, Tabka F, Ben Khelifa H, Harrabi I, et al. A Combination of Micronucleus Assay and Fluorescence In Situ Hybridization Analysis to Evaluate the Genotoxicity of Formaldehyde. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2013; 64(2):337-44.
18. Shaham J, Bomstein Y, Meltzer A, Kaufman Z, Palma E, Ribak J. DNA-protein crosslinks, a biomarker of exposure to formaldehyde - in vitro and in vivo studies. *Carcinogenesis*. 1996; 17:121-125.
19. Shaham J, Bomstein Y, Gurvich R, Rashkovsky M, Kaufman Z. DNA-protein crosslinks and p53 protein expression in relation to occupational exposure to formaldehyde. *Occup Environ Med*. 2003; 60(6): 403–409.
20. Orsiere T, Sari-Minodier I, Iarmarcovai G, Botta A. Genotoxic risk assessment of pathology and anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde by use of personal air sampling and analysis of DNA damage in peripheral lymphocytes. *Mutat Res*. 2006; 605: 30–41.
21. WHO. Concise International Chemical Assessment Document 40, Formaldehyde [en línea]. Geneva: WHO; 2002 [citado May 02 de 2013]. Disponible en <http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/a73769.pdf>
22. Caldes A, Gomez FJ. Formaldehído. En: Pascual J, coordinador. Agentes químicos en el ambito sanitario. Madrid: Escuela Nacional de Medicina Del Trabajo; 2010. p. 161-184.
23. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 873: Prevención de la exposicion a formaldehido. Barcelona: INSHT; 2003.
24. National Institute for Occupational Safety and Health. Immediately Dangerous To Life or Health Concentrations (IDLHs) Formaldehyde. [en línea]. Georgia: CDC; 1994 [citado 6 Abr 2013]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/niosh/idlh/50000.html>

25. Capone L. Asma ocupacional. *Rev Arg Med Resp*. 2010; 4: 171-173.
26. Sakamoto T, Doi S, Torii S. Effects of formaldehyde, as an indoor air pollutant, on the airway. *Allergol Int*. 1999; 48(3):151–160.
27. Kilburn KH. Neurobehavioral impairment and seizures from formaldehyde. *Arch Environ Health*. 1994; 49:37-44.
28. Bach B, Pedersen O, Mohvave L. Human performance during experimental formaldehyde exposure. *Environmental International*. 1990; 16: 105–113.
29. Lucena S, Fernández M, Fernández N, Muedra M, Otero C, Pérez A, et al. Guía de valoración de riesgos laborales en el embarazo y lactancia en trabajadoras del ámbito sanitario. Madrid: ANMTAS; 2008.
30. National Toxicology Program. Final Report on Carcinogens Background Document for Formaldehyde. North Carolina: U.S. Department of Health and Human Services; 2010.
31. Work Safe BC. Occupational Exposure Limits for Formaldehyde. [Internet]. Canadá: Work Safe BC; 2009. [recuperado 14 Jul 2009; citado 7 May 2013]. Disponible en: http://www.worksafebc.com/regulation_and_policy/policy_decision/board_decisions/2009/july/default.asp
32. Heck HD, Casanova-Schmitz M, Dodd PB, Schachter EN, Witek TJ, Tosun T. Formaldehyde (CH₂O) concentrations in the blood of humans and Fischer-344 rats exposed to CH₂O under controlled conditions. *Am Ind Hyg Assoc J*. 1985; 46: 1–3.
33. Bolt, H. Experimental toxicology of formaldehyde. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1987; 113 (4): 305–309
34. Heck HD, Chin TY, Schmitz MC. Distribution of [14C] formaldehyde in rats

- after inhalation exposure. En: Gibson JE, editor. Formaldehyde toxicity. Washington DC: Hemisphere Publishing Corporation; 1983. p. 26-37.
35. Kimbell JS, Subramaniam RP, Gross EA, Schlosser PM, Morgan KT. Dosimetry modeling of inhaled formaldehyde: comparisons of local flux predictions in the rat, monkey, and human nasal passages. *Toxicol Sci.* 2001; 64:100–110.
 36. Schlosser PM. Relative roles of convection and chemical reaction for the disposition of formaldehyde and ozone in nasal mucus. *Inhal Toxicol.* 1999; 11: 967–980.
 37. Hedberg JJ, Hoog JO, Grafstrom RC. Assessment of Formaldehyde Metabolizing Enzymes in Human Oral Mucosa and Cultured Oral Keratinocytes Indicate High Capacity for Detoxification of Formaldehyde. Stuttgart: Fraunhofer IRB; 2002. p. 103-115.
 38. Green DJ, Sauder LR, Kulle TJ, Bascom R. Acute response to 3.0 ppm formaldehyde in exercising healthy nonsmokers and asthmatics. *Am Rev Respir Dis.* 1987; 135(6): 1261–1266
 39. Edling C, Hellquist H, Ödkvist L. Occupational exposure to formaldehyde and histopathological changes in the nasal mucosa. *Br J Ind Med.* 1988; 45(11): 761–765
 40. Boysen M, Zadig E, Digernes V, Abeler V, Reith A. Nasal mucosa in workers exposed to formaldehyde: A pilot study. *Br J Ind Med.* 1990; 47(2): 116–121
 41. Lu K, Boysen G, Gao L, Collins LB, Swenberg JA. Formaldehyde-induced histone modifications in vitro. *Chem Res Toxicol.* 2008; 21(8): 1586-1593.
 42. Guyton KZ, Kyle AD, Aubrecht J, Coglianò VJ, Eastmond DA, Jackson M, et al. Improving prediction of chemical carcinogenicity by considering multiple mechanisms and applying toxicogenomic approaches. *Mutat Res.* 2009;

681(2-3): 230-240.

43. Zhang L, Tang X, Rothman N, Vermeulen R, Ji Z, Shen M, et al. Occupational exposure to formaldehyde, hematotoxicity and leukemia-specific chromosome changes in cultured myeloid progenitor cells. *Cancer Epidem Bio Prev.* 2010; 9(1): 80-88.
44. Feron VJ, Til HP, de Vrijer F, Woutersen RA, Cassee FR, Van Bladeren, PJ. Aldehydes: Occurrence, carcinogenic potential, mechanism of action and risk assessment. *Mutat Res.* 1991; 259(3-4): 363–385
45. Kum C, Kiral F, Sekkin S, Seyrek K, Boyacioglu M. Effects of xylene and formaldehyde inhalations on oxidative stress in adult and developing rats livers. *Exp Anim.* 2007; 56:35–42.
46. Sogut S, Songur A, Aslan O, Ozyurt H, Sarsilmaz M. Does the subacute (4-week) exposure to formaldehyde inhalation lead to oxidant/antioxidant imbalance in rat liver? *Eur J Gen Med.* 2004; 1(3): 26-32.
47. Zhang L, Steinmaus C, Eastmond DA, Xin XK, Smith MT. Formaldehyde exposure and leukemia: A new meta-analysis and potential mechanisms. *Mutat Res.* 2009; 681(2-3):150–168.
48. Dirección General de Salud Ambiental. Valores límites permisibles para agentes químicos en el ambiente de trabajo. Lima: DIGESA; 2006.
49. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 244: Criterios de valoración en Higiene Industrial. Barcelona: INSHT; 1986.
50. Occupational Safety and Health Administration. Chemical Sampling Information: Formaldehyde. [en línea]. Washington, DC: OSHA; 2012 [Citado 9 Feb 2013]. Disponible en: http://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_242600.html

51. Goyer N, Bégin D, Bouchard M, Buissonnet S, Carrier G, Gely O, et al. Impacts of the lowering of the permissible exposure value for formaldehyde - Pathology laboratories [Internet]. Montréal: Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail; 2004 [citado 12 Jul 2013]. Disponible en: <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/RA8-386.pdf>
52. Albertini R, Bird M, Doerrer N, Needham L, Robison S, Sheldon L, et al. The Use of Biomonitoring Data in Exposure and Human Health Risk Assessments. *Environ Health Perspect.* 2006; 114(11): 1755-62.
53. WHO/IPCS. Environmental Health criteria 155. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. [en línea]. Geneva: WHO; 1993 [citado 26 Jul 2013]. Disponible en <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc155.htm>
54. Ladeira C, Viegas S, Carolino E, Carmo M, Brito M. Genotoxicity Biomarkers: Application in Histopathology Laboratories. En: Kumar T, editor. Biomarker. 1ed. Rijeka: InTech; 2012. p.133-154.
55. Organización Internacional del Trabajo. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Madrid: Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales; 1998.
56. Olive P, Banáth J. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature Protocols.* 2006; 1(1): 23-29.
57. Zúñiga L. Optimizaciones metodológicas del ensayo cometa y su aplicación en biomonitorización humana [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; 2009.
58. Ruiz S, Flores A, Ramos M, Moya M, Aguiar P, Sánchez R, et al. Micronúcleos en células de mucosa bucal como biomarcador de riesgo para cáncer. *Nueva Época.* 2013; 4(13): 34-39.
59. Torres O, Zavala M, Macriz N, Flores A, Ramos M. Procedimientos básicos de

la prueba de micronúcleos y anormalidades nucleares en células exfoliadas de mucosa oral. *El Residente*. 2013; 8(1): 4-11.

60. Torres O, Ramos M. Utilidad de la prueba de micronúcleos y anormalidades nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *Int J Morphol*. 2013; 31(2):650-657.
61. Tolbert P, Shy C, Allen J. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *Am. J. Epidemiol*. 1991; 134(8): 840-50.
62. WHO. Tabaquismo [en línea]. Ginebra: OMS; 2013 [citado 3 Jun 2013]. Disponible en: <http://www.who.int/topics/tobacco/es/>
63. Bolet M, Socarras M. El alcoholismo, consecuencias y prevención. *Rev Cubana Invest Biomed*. 2003; 22(1): 25-31.
64. Costa S, Pina C, Coelho P, Costa C, Silva S, Porto B, et al. Occupational exposure to formaldehyde: genotoxic risk evaluation by comet assay and micronucleus test using human peripheral lymphocytes. *J Toxicol Environ Health A*. 2011; 74(15-16): 1040-51.
65. Pradeep MR, Yadavalli G, Maji J, Kartikay S, Deepa K, Vishnudas P. Comparative Study of Genotoxicity in Different Tobacco Related Habits using Micronucleus Assay in Exfoliated Buccal Epithelial Cells. *J Clin Diagn Res*. 2014; 8(5): 21–24.
66. Jindal S, Chauhan I, Grewal HK. Alteration in buccal mucosal cells due to the effect of tobacco and alcohol by assessing the silver-stained nucleolar organiser regions and micronuclei. *J Cytol*. 2013; 30(3): 174-8.
67. Zeller J, Neuss S, Mueller JU, Kühner S, Holzmann K, Högel J, et al. Assessment of genotoxic effects and changes in gene expression in humans exposed to formaldehyde by inhalation under controlled conditions.

Mutagenesis. 2011; 26(4): 555-61.

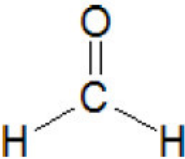
68. Aydin S, Canpinar H, Undeger U, Guc D, Çolakoglu M, Kars A, et al. Assessment of immunotoxicity and genotoxicity in workers exposed to low concentrations of formaldehyde. Arch Toxicol. 2013; 87(1): 145-53.

X. ANEXOS

ANEXO 1

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL FORMALDEHÍDO





Fuente: Agency for Toxic Substances and Disease Registry³

Fórmula química	HCHO
Fórmula química desarrollada	
Masa molecular	30,03 g/mol
Densidad	0,816 g/cm ³ a -20 °C
Densidad de vapor (aire = 1)	1,04 – 1,06
Tensión de vapor	517 – 519 kPa a 25 °C
Punto de ebullición	-19 °C
Punto de fusión	-92 °C
Temperatura de autoignición	424 °C
Límites de explosividad en aire	
- límite inferior	7 %
- límite superior	73 %
Punto de inflamación de soluciones acuosas al 37 % de formaldehído	
- sin metanol	83 °C
- 15 % de metanol	50 °C
Umbral olfativo	0,05 – 1,00 ppm

ANEXO 2

CLASIFICACIÓN DE PELIGROSIDAD DE LAS SOLUCIONES DE FORMALDEHÍDO

Fuente: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo²³

Concentración (% peso)	Símbolo	Identificación de peligro	Pictograma	Frases R
> 25 %	T	Tóxico		23/24/25 -34-40-43
5% ≤ C < 25%	Xn	Nocivo		20/21/22- 36/37/38 -40-43
1% ≤ C < 5%	Xn	Nocivo		40-43
0,2% ≤ C < 1 %	Xi	Irritante		43
<p>Significado de las frases R:</p> <p>20/21/22 Nocivo por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel.</p> <p>23/24/25 Tóxico por inhalación, en contacto con la piel y por ingestión.</p> <p>34 Provoca quemaduras.</p> <p>36/37/38 Irrita los ojos, la piel y las vías respiratorias.</p> <p>40 Posibles efectos cancerígenos.</p> <p>43 Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.</p>				

ANEXO 3

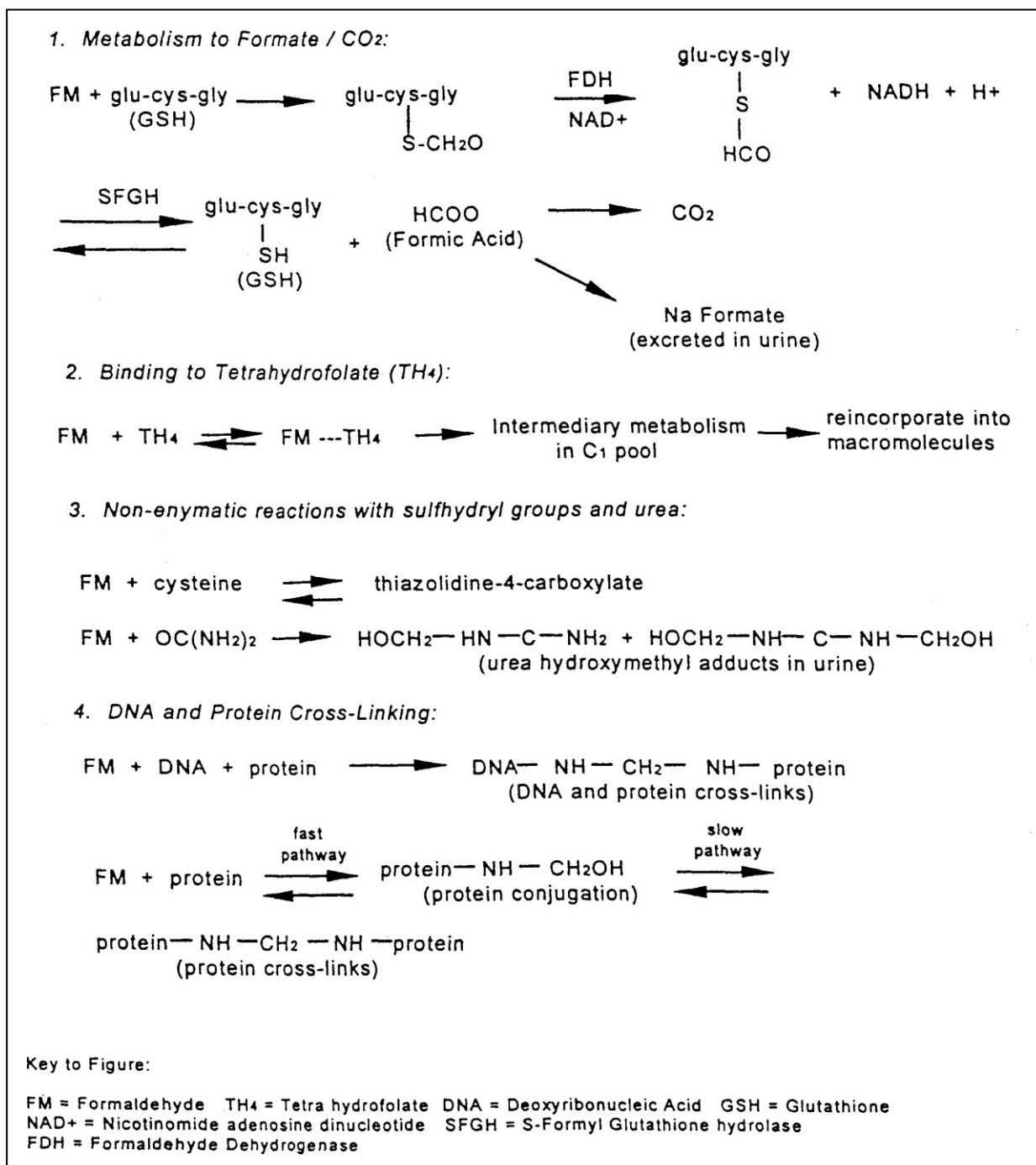
CLASIFICACIÓN DE LOS EFECTOS CARCINOGENÉTICOS DEL FORMALDEHÍDO

Organización	Clasificación	Descripción
ACGIH	A2	Carcinógenos con sospecha de serlo en el humano. El agente es carcinogénico en los animales de experimentación a niveles de dosis, ruta(s) de administración, puntos de tipo histológico o por mecanismos que se consideran importantes en la exposición de los trabajadores. Los estudios epidemiológicos disponibles son conflictivos o insuficientes para confirmar un aumento del riesgo en los humanos expuestos.
IARC	1	Carcinogénico para el ser humano. Existen pruebas suficientes de carcinogenicidad en humanos y en animales de experimentación. Pruebas suficientes de que el formaldehído provoca cáncer nasofaríngeo, pero no una prueba suficiente de la leucemia, y pruebas limitadas de cáncer sinusoidal.
Unión Europea	3	Sustancia cuyo posible efecto carcinogénico en el hombre es preocupante, pero de la que no se dispone de información suficiente para realizar una evaluación satisfactoria. Hay algunas pruebas procedentes de análisis con animales, pero que resultan insuficientes para incluirlas en la segunda categoría.

Fuente: Work Safe BC³¹

ANEXO 4

VÍAS METABÓLICAS DEL FORMALDEHÍDO



Fuente: Agency for Toxic Substances and Disease Registry³

ANEXO 5

TIPOS DE EXPOSICION OCUPACIONAL

La exposición ocupacional a un agente se cuantifica en términos de la concentración del agente obtenida de las mediciones de exposición, referida al mismo período de referencia que el utilizado para el valor límite aplicable. En consecuencia, pueden definirse dos tipos de exposición:

a) Media Ponderada en el Tiempo (TWA)

Es la concentración media del agente químico en la zona de respiración del trabajador medida, o calculada de forma ponderada con respecto al tiempo, para la jornada estándar de 8 horas diarias. Referir la concentración media a dicha jornada estándar implica considerar el conjunto de las distintas exposiciones del trabajador a lo largo de la jornada real de trabajo, cada una con su correspondiente duración, como equivalente a una única exposición uniforme de 8 horas. La TWA, puede calcularse matemáticamente mediante la siguiente fórmula:

$$TWA = \Sigma C_i T_i / 8$$

Siendo:

Σ : Sumatoria

C_i : La concentración i-ésima

T_i : Tiempo de exposición, en horas, asociado a cada valor C_i

Para los efectos del cálculo de la TWA de la jornada laboral, la suma de los tiempos de exposición que se han de considerar en el numerador de la fórmula anterior será igual a la duración real de la jornada en cuestión, expresada en horas.

b) Exposición de corta duración: (STEL)

Es la concentración media del agente químico en la zona de respiración del trabajador, medida o calculada para cualquier período de 15 minutos a lo largo de la jornada laboral, excepto para aquellos agentes químicos para los que se especifique un período de referencia inferior, en la lista de Valores Límite.

Lo habitual es determinar las STEL de interés, es decir, las del período o períodos de máxima exposición, tomando muestras de 15 minutos de duración en cada uno de ellos.

ANEXO 6

CLASIFICACIÓN DE VALORES LÍMITE PERMISIBLES -TLV

Se consideran las siguientes categorías de TLV:

1. Valor Límite Permisible - Media Ponderada en el Tiempo (TLV-TWA)

Es el valor de referencia para la Media Ponderada en el Tiempo (TWA). Los TLV-TWA representan las condiciones en las cuales la mayoría de los trabajadores pueden estar expuestos 8 horas diarias y 40 horas semanales durante toda su vida laboral, sin sufrir efectos adversos a su salud.

2. Valor Límite Permisible - Exposición de Corta Duración (TLV - STEL)

Es el valor de referencia para la Exposición de Corta Duración (STEL). El TLV - STEL no debe ser superado por ninguna STEL a lo largo de la jornada laboral. Para aquellos agentes químicos que tienen efectos agudos reconocidos pero cuyos principales efectos tóxicos son de naturaleza crónica, el TLV-STEL constituye un complemento del TLV - TWA y, por tanto, la exposición a estos agentes se valorarán vinculando ambos límites. Las exposiciones por encima del TLV-TWA hasta el valor STEL no deben tener una duración superior a 15 minutos ni repetirse más de cuatro veces al día. Debe haber por lo menos un período de 60 minutos entre exposiciones sucesivas de este rango.

3. Valor Límite Permisible - Techo (TLV - Ceiling) o TLV – C

Es la concentración que no se debe sobrepasar en ningún momento durante la exposición en el período de trabajo. En caso que no sea posible realizar una medida instantánea, el TLV-C se puede fijar cuando las exposiciones son cortas mediante muestreos durante 15 minutos, excepto para aquellas sustancias que puedan causar irritación de inmediato. Como acción preventiva, para el ingreso a ambientes donde se utilizan sustancias con valor límite techo, se deben usar equipos de protección respiratoria con filtros para neutralizar los gases. Si además estas sustancias tienen acción sobre la piel o las mucosas, usar la protección adecuada.

ANEXO 7

VALORES LÍMITES DE EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A FORMALDEHIDO

Dirección General de Salud (DIGESA)	Valor Limite Permisible (TLV)	0.3 ppm	Ceiling
		0.37 mg/m ³	Ceiling
Occupational Safety and Health Administration (OSHA)	Permissible Exposure Limit (PEL)	0.75 ppm	TWA
		2 ppm	STEL
National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)	Recommended Exposure Limit (REL)	0.016 ppm	TWA
		0.1 ppm	Ceiling
American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)	Threshold Limit Value (TLV)	0.3 ppm	Ceiling
		0.37 mg/m ³	Ceiling

TWA: Media Ponderada en el tiempo (promedio durante 8h)

STEL: Exposición de Corta Duración (promedio durante 15min)

Ceiling: Valor Techo (promedio durante 15min) (valor que nunca debe ser excedido)

ANEXO 8

CONCENTRACIÓN DE FORMALDEHÍDO EN AIRE DE DISTINTOS AMBIENTES

Actividad/Empresa	Concentración (ppm)
Oficinas (decoración)	0,33 – 0,19
Edificios (reformas)	0,60 – 1,20
Hospitales Limpieza/Desinfección	1,62 – 0,01
Hospitales Anatomía patológica (Laboratorio)	0,08 – 6,90
Hospitales Anatomía patológica (Archivo muestras)	0,22 – 0,36
Hospitales Endoscopias	0,08 – 0,01
Hospitales Autopsias (Sala)	0,07– 8,40
Hospitales Autopsias (Archivo muestras)	1,10 – 1,60
Prácticas disección de cadáveres	0,38 – 2,94
Aire urbano	0,02 – 0,04

Fuente: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo²³

ANEXO 9

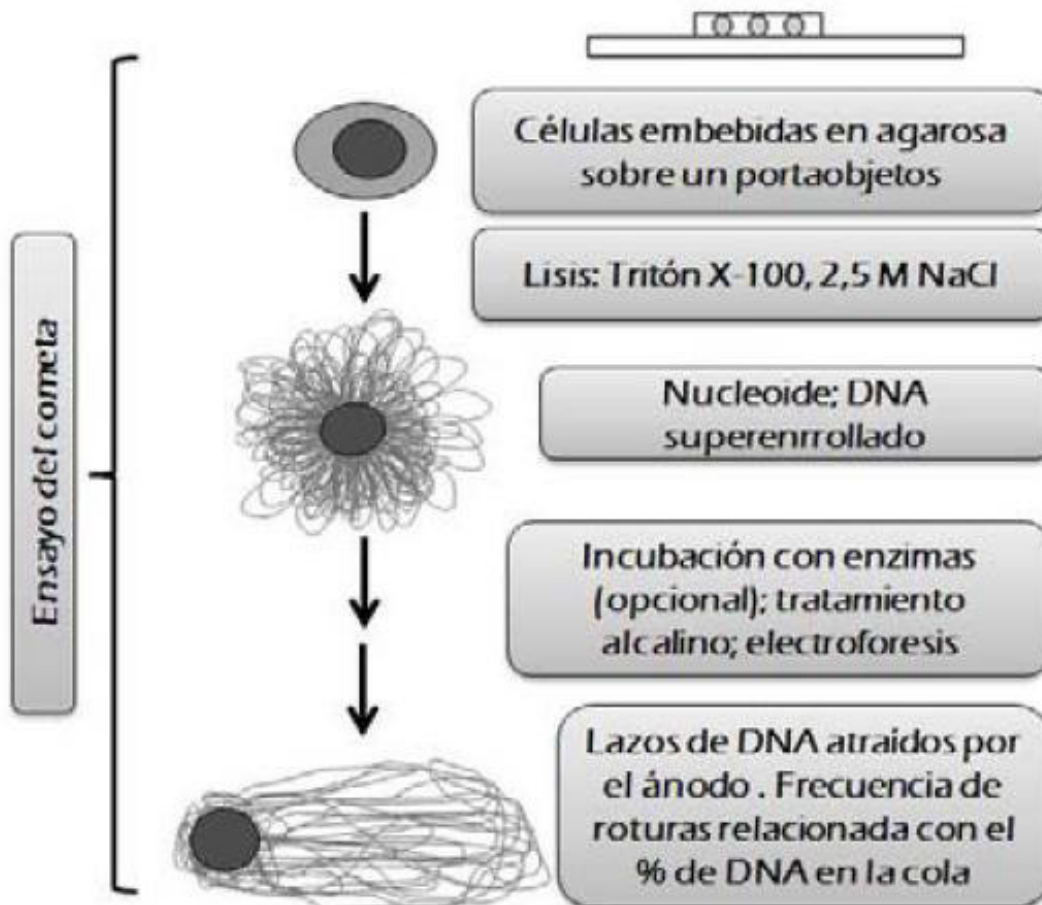
CONCENTRACIÓN DE FORMALDEHÍDO EN DISTINTAS OPERACIONES REALIZADAS EN LABORATORIOS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

Fuentes de exposición	Concentración (ppm)
Manipulación de formaldehído	
Preparación de soluciones de formaldehído	1 – 2
Rellenado de botes	1 – 2
Decantación de residuos de formaldehído en máquina reciclaje	0,3 – 0,75
Manipulación de muestras	
Manipulaciones de muestras durante etapa macroscópica	< 0,3 – >2
Actividades no realizadas bajo campana extractora	0,7 – > 2
Inserción de casetes en procesador de muestras	1 – 2
Manipulación de residuos – Almacenamiento	
Vaciado de los residuos de las muestras y soluciones	0,3 – >2
Mantenimiento procesador de muestras	1 – > 2
Mantenimiento máquina reciclado	0,3 – 0,75
Almacenamiento de muestras	0,3 – 0,75
Cubo residuos de muestras	> 2

Fuente: Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et en Sécurité du Travail⁵¹

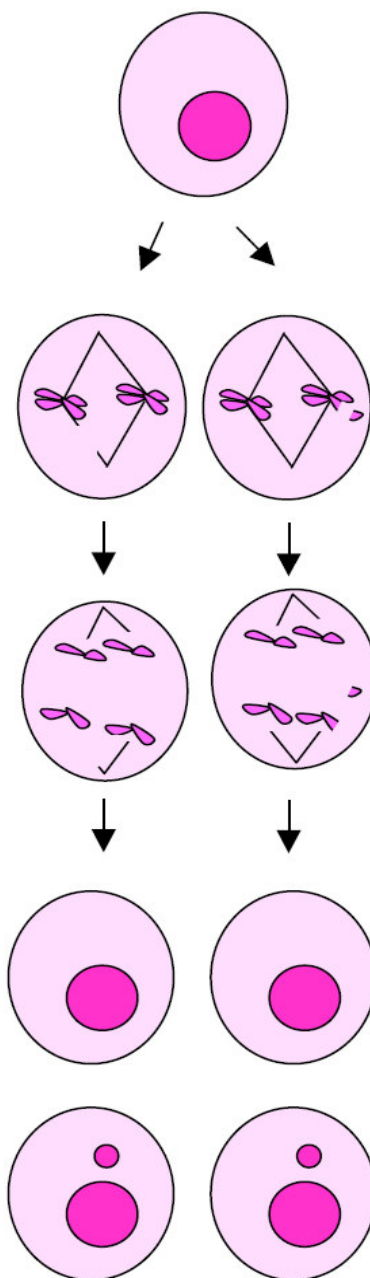
ANEXO 10

FORMACIÓN DEL COMETA



ANEXO 11

FORMACIÓN DE MICRONÚCLEOS



ANEXO 12

ESTIMACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL

Datos Requeridos		Estimado
Proporción esperada de CASOS Expuestos	p1	0.7
Proporción de esperada de CASOS No Expuestos	p2	0.37
Razón de Cambio (OR) que se espera detectar	R	4
Número de CONTROLES a incluir por cada CASO	c	1
Nivel de Confianza	(1-α)	95%
Poder de Prueba	(1-β)	80%
Información de resultados y verificación	Ho: P1=P2	Estimado
Valor de Z para el nivel de confianza elegido	Z(1-α/2)	1.96
Valor de Z para el poder de prueba seleccionado	Z(1-β)	0.842
Frecuencia de Exposición entre los CASOS	p1=Rp2/[1-p2+Rp2]	0.7
Frecuencia de No Exposición entre los CASOS	p2=p1/[R(1-p1)+p1]	0.37
Odds Ratio a detectar	R=p1(1-p2)/p2(1-p1)	4
Número de controles por cada caso	c	1
Proporción promedio	p=(p1+p2)/2	0.535
Tamaño de la población	N	1000

- **Número de casos requeridos: “Expuestos”**

$$n' = \frac{\left(z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{(c+1)p(1-p)} + z_{1-\beta} \sqrt{c p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right)^2}{c (p_1 - p_2)^2}$$

$$n' = 34 \quad (\text{tamaño de muestra preliminar})$$

$$n = n' / [1 + (n'-1) / N]$$

$$n = 33 \quad (\text{tamaño de muestra final})$$

- **Número de controles requeridos: “No expuestos”**

$$m = n.c$$

$$m = 33 \text{ (tamaño de muestra final)}$$

ANEXO 13



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA
EAP TECNOLOGÍA MÉDICA
ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**



CUESTIONARIO

**DETERMINACION DE DANO GENOTOXICO POR EXPOSICION OCUPACIONAL A
FORMALDEHIDO EN TRABAJADORES DE TRES LABORATORIOS DE ANATOMIA
PATOLOGICA DE LIMA**

Sexo: M F Edad: _____ Ocupación: _____

HÁBITOS DE CONSUMO

1. ¿Consume Ud. con frecuencia algunos de los siguientes productos?:

- a) Alcohol _____ veces por semana
- b) Tabaco/Cigarros _____ veces al día
- c) Drogas
- d) Ninguna

ANTECEDENTES MÉDICO-FAMILIARES

2. ¿Sufre Ud. actualmente alguna enfermedad?:

- a) Si b) No Especifique: _____

3. ¿Consume Ud. medicamentos?

- a) Sí b) No Especifique: _____

4. ¿Se somete Ud. a terapia con rayos x?

- a) Sí b) No Frecuencia: _____

5. ¿Tiene o ha tenido Ud. algún familiar con cáncer?

- a) Si b) No Parentesco: _____

ACTIVIDAD LABORAL (Si Ud. no trabaja con formol, pase a la pregunta 12)

6. ¿Cuánto tiempo lleva Ud. trabajando con formol?

- a) 1 – 5 años b) 5 - 10 años c) Más de 10 años

7. En su trabajo ¿Cuánto tiempo está Ud. en contacto con el formol?

_____ Horas al día

BARRERAS DE CONTENCION PRIMARIAS

8. ¿Usa Ud. equipo de protección personal cuando trabaja con formol?

- a) Mandil
b) Guantes
c) Respiradores para compuestos volátiles
d) Otros: _____
e) Ninguno

9. ¿Usa Ud. Cabina de seguridad biológica cuando trabaja con formol?

- a) Cabina de seguridad Clase I
b) Cabina de seguridad Clase II
c) Cabina de seguridad Clase III
d) Ninguno

BARRERAS DE CONTENCION SECUNDARIAS

10. ¿Existe en su área de trabajo con formol un adecuado sistema de ventilación?

- a) Si b) No

*Esta información será corroborada mediante reconocimiento de los sistemas de ventilación del área de trabajo.

SIGNOS Y SÍNTOMAS

11. ¿Sufre alguna reacción adversa cuando trabaja con formol?

- a) Dermatitis
b) Rinitis
c) Neumonitis
d) Otros: _____
e) Ninguna

*Los signos y síntomas indicados por el participante son en base a su propia percepción.

EXPOSICION A OTROS AGENTES

12. A parte del formol ¿Usa Ud. algún compuesto químico peligroso durante su trabajo o fuera de su trabajo?

a) Si

b) No

Especifique: _____

ANEXO 14

OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Sangre capilar: Las muestras de sangre capilar fueron obtenidas por punción dactilar en el dedo anular con una lanceta aséptica desechable y recolectada en 2 tubos capilares heparinizados. A cada individuo se le extrajo aproximadamente 200ul de sangre capilar. Las muestras se depositaron en tubos eppendorf de 1.5 ml y se mantuvieron a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su llegada, lo más pronto posible, al laboratorio de toxicogenética del CENSOPAS (Centro Nacional de Salud Ocupacional y Protección del Medio Ambiente para la Salud) para su procesamiento durante el transcurso del día.

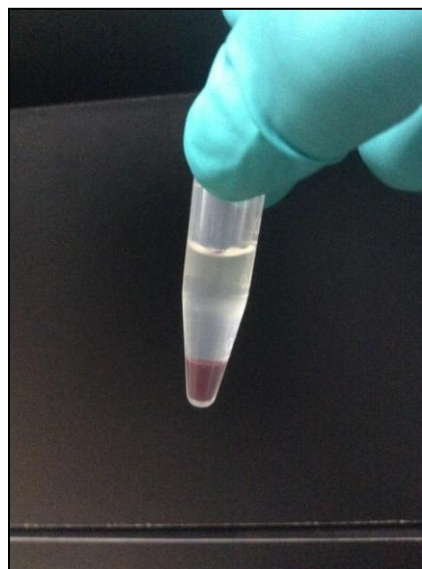
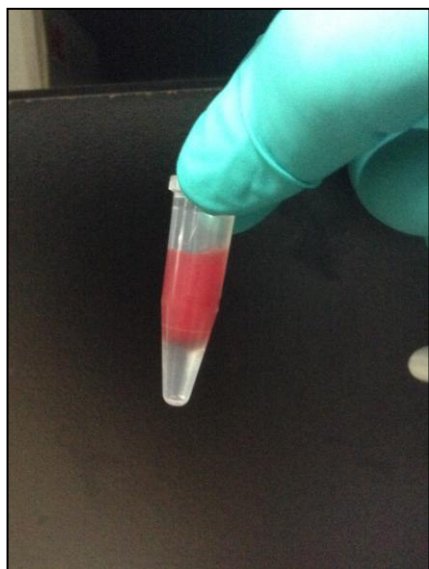
Células epiteliales bucales: Las muestras de células epiteliales bucales se obtuvieron friccionando la cara interna de ambas mejillas de los participantes con un hisopo de algodón estéril, sin tocar dientes, paladar ni lengua, previo enjuague bucal con agua potable. De inmediato los hisopos con las muestras fueron depositados en tubos de poliestireno de 15 ml conteniendo 5 ml de PBS pH=7.4 para su transporte al laboratorio.

ANEXO 15

AISLAMIENTO DE LINFOCITOS DE SANGRE CAPILAR

Se obtuvo 200ul de sangre capilar heparinizada en un tubo eppendorf de 1.5ml. En condiciones estériles, se mezcla el volumen de sangre con un volumen igual de PBS (200ul) y se homogeniza suavemente con el misma puntera. Posteriormente, se añade en el fondo del tubo 200ul de Histopaque 1077, inclinando aproximadamente 45° el tubo. La posición vertical del tubo se va recuperando paulatinamente, a medida que se va llenando para evitar la mezcla de las fases.

A continuación, se centrifuga a 400g durante 30 minutos a 4°C (centrifuga refrigerada). El tubo debe estar perfectamente equilibrado. Después de centrifugar, los linfocitos se hacen visibles formando un anillo justo entre el plasma y el Histopaque fácilmente extraíble con el uso de una pipeta, recuperando aproximadamente 300ul de linfocitos. Finalmente el volumen de linfocitos recuperado se lava con 700ul de PBS centrifugando a 450g durante 20 minutos. Decantar el sobrenadante por inversión y resuspender el pellet con el mismo remanente en vortex. Este procedimiento aseguró la obtención de una concentración final ≥ 1000 linfocitos/ μ l.

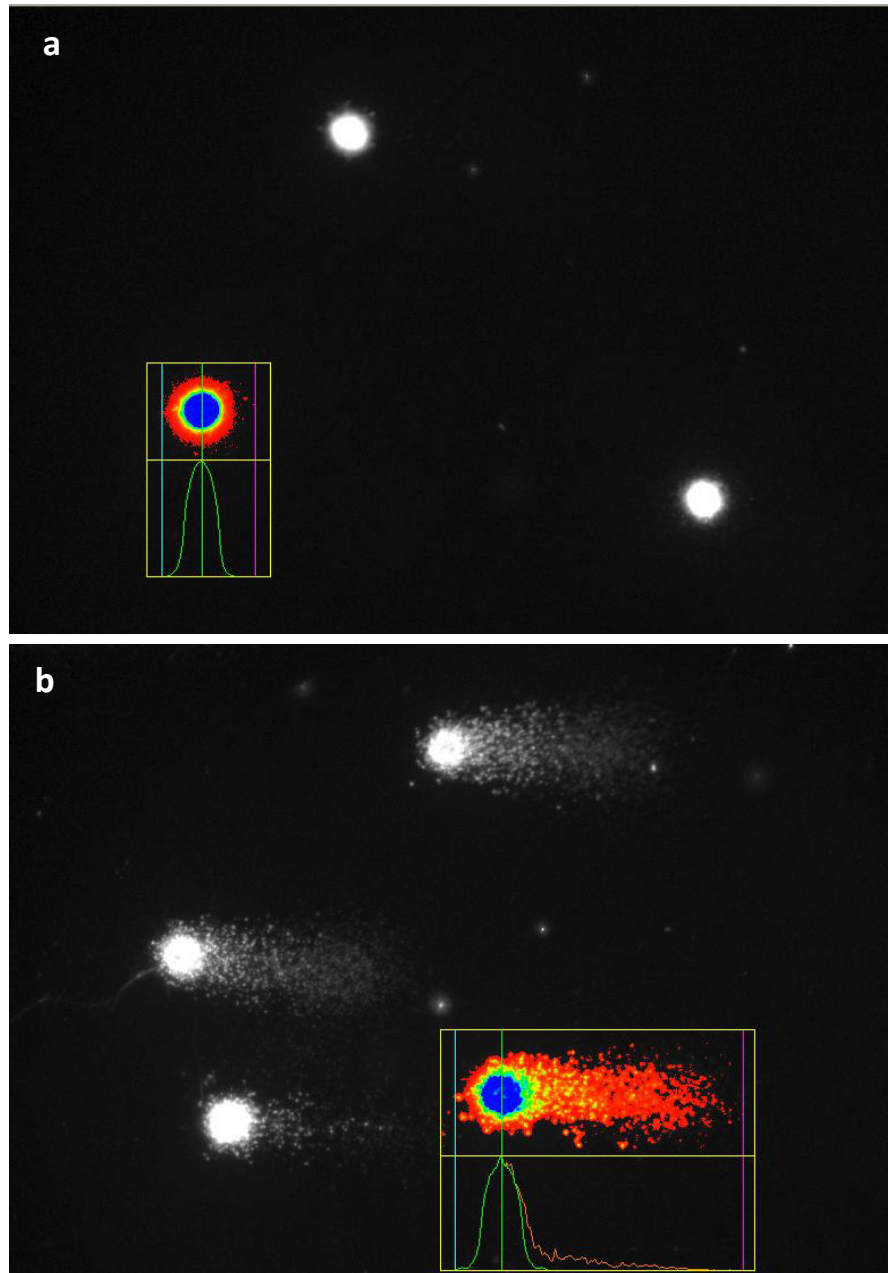


ANEXO 16

ENSAYO COMETA EN LINFOCITOS DE SANGRE CAPILAR

Todo el proceso fue realizado en oscuridad para evitar daño al ADN. Se tomó 10 μ l del pellet de linfocitos aislados y se suspendió con 75 μ l de agarosa de bajo punto de fusión 0.5% previamente licuada y atemperada a 37°C. La suspensión celular fue extendida sobre una lámina portaobjetos previamente cubierta con una capa gelificada de agarosa de punto de fusión normal 0.5%. La lámina con la suspensión celular extendida fue cubierta con una laminilla cubreobjetos y llevada a 4°C por 10 minutos para su gelificación. Luego se retiró delicadamente la laminilla y se sumergió la lámina embebida con las células en buffer de lisis (2,5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris, pH 10, 1% Triton X-100 y 10% DMSO) durante 24 horas a 4°C, esto permitió la lisis citoplasmática. Después de la incubación con lisis, la lámina fue colocada en una cámara de electroforesis horizontal y expuesta a buffer alcalino frío (1mM Na₂EDTA, 300 mM NaOH, pH>13) por 20 minutos, esto permitió el desenrollamiento del ADN nuclear). Inmediatamente después la lámina fue sometida a electroforesis por 20 minutos a 25 voltios y 300 miliamperios en el mismo buffer. Luego fue lavada con buffer Tris (0.4 M, pH 7.5) durante 10 minutos, esto con el propósito de la neutralizar del exceso de álcali y remover los detergentes. Finalmente la lamina fue deshidratada y fijada con etanol absoluto por 10 minutos y almacenada en una caja portaláminas protegida de la luz, polvo y humedad hasta su tinción y análisis. Se trabajó de la misma manera un control interno de linfocitos previamente tratados con H₂O₂ 50uM por cada corrida electroforética (9 muestras + 1 control interno), asegurando la validez de la prueba.

Previo al análisis, las láminas fueron rehidratadas con buffer Tris (0.4 M, pH 7.5) por 3 minutos y teñidas con SYBR Green 1x en buffer TE (10mM Tris, 1mM. EDTA) por 20 minutos. Luego fueron examinadas bajo el microscopio de fluorescencia con filtro azul (λ = 500 nm) usando el objetivo de 40X. Se analizó 100 células por cada lámina.



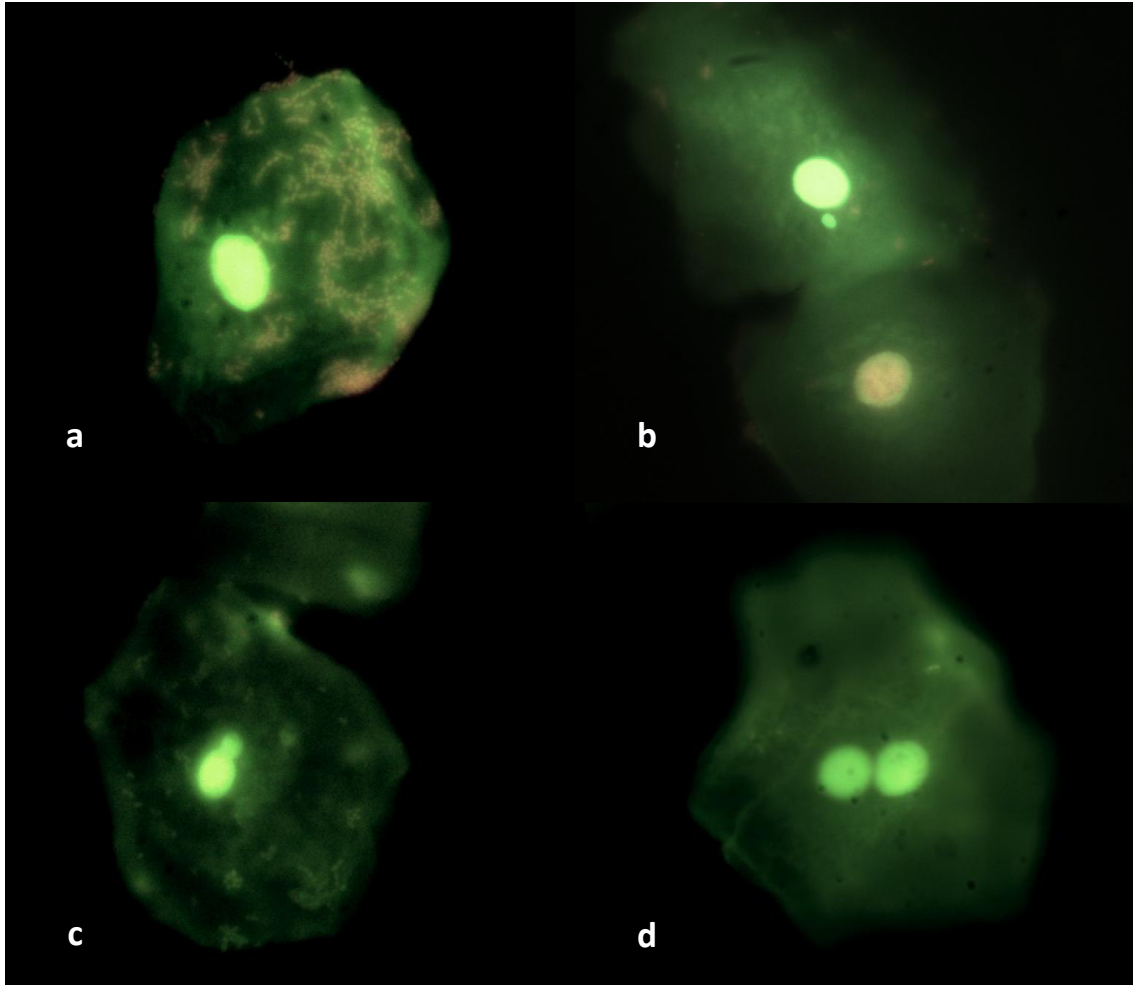
Ensayo cometa en linfocitos de sangre capilar. Tinción con SYBR Green 1x. a) Nucleoides, no se detectan daños a nivel de la cola, b) Cometas: notar la presencia de daños a nivel de las colas (proporcionales a su longitud e intensidad). Microscopio binocular de fluorescencia Mca. Meiji Techno MT600. Filtro Azul de 500 nm, objetivo planacromático 40x. Medicion a través del Software Comet assay IV. Mca. Perceptive Instruments Ltda. Imágenes propias.

ANEXO 17

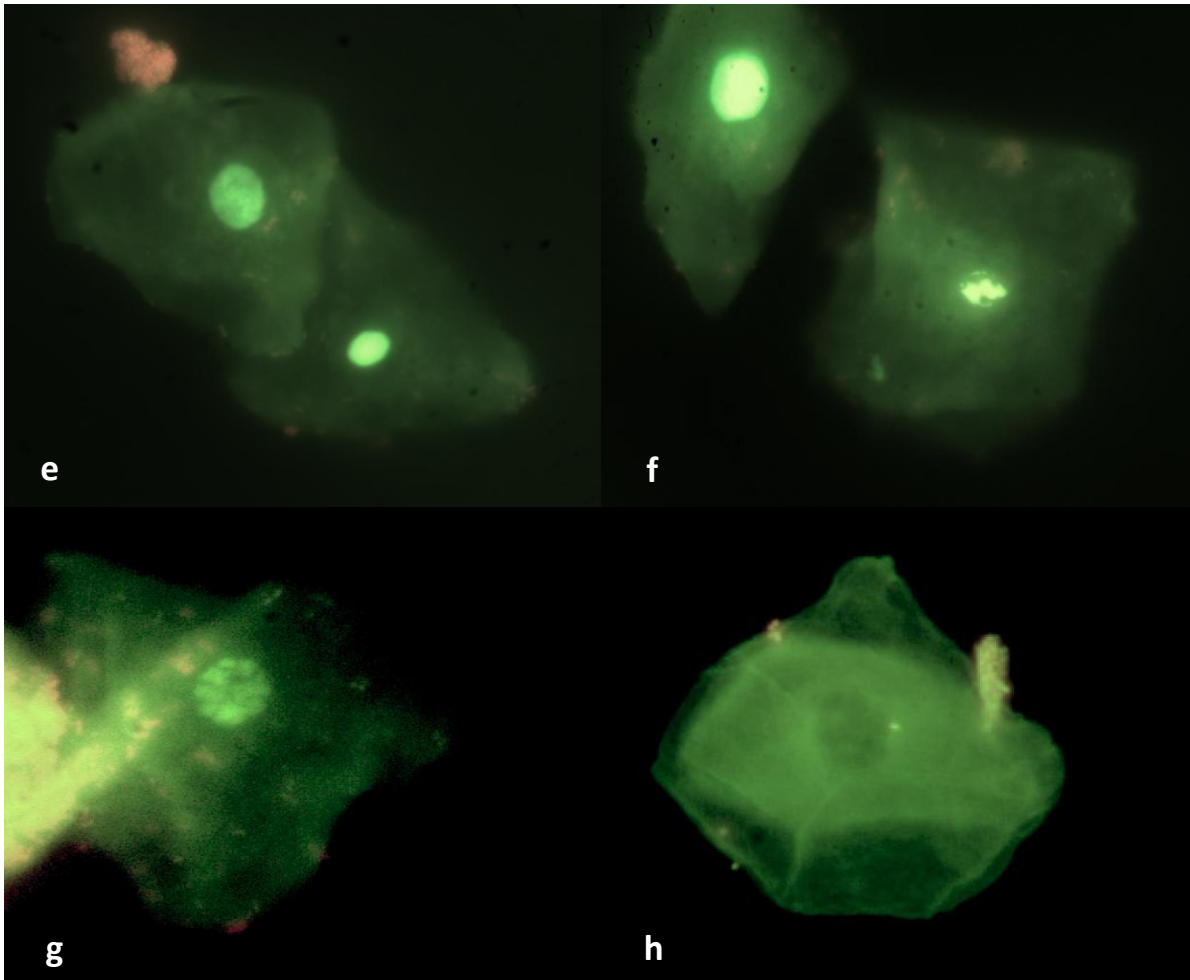
TEST DE MICRONÚCLEOS Y ANORMALIDADES NUCLEARES EN CÉLULAS EPITELIALES BUCALES

Las muestras de células epiteliales bucales fueron resuspendidas en PBS (2.7 mM KCl, 137 mM NaCl, 100 mM Na₂HPO₄, 2 mM KH₂PO₄, pH 7.4) golpeando el hisopo en las paredes y fondo del tubo. Luego la muestra es centrifugada a 1200 rpm durante 10 minutos, se decantó el sobrenadante. Seguidamente se resuspendió suavemente el pellet con 5 mL de PBS con ayuda de una pipeta Pasteur de plástico y se centrifugó nuevamente a 1200 rpm durante 10 minutos (este paso se repitió una o dos veces más hasta obtener una densidad celular adecuada para la lectura al microscopio). Se agregó 500 µl de una solución recién preparada de ácido acético: metanol absoluto (1:3) previamente fría y se agitó suavemente con vórtex para disgregar las células. Con ayuda de la misma pipeta Pasteur se dejó caer 3 gotas de la suspensión celular en una lámina portaobjetos limpia y desengrasada. La lámina se dejó secar al aire libre para su fijación.

Se empleó la tinción fluorescente Naranja de Acridina específica para ADN. Se colocó las láminas durante 5 minutos en naranja de acridina (1mg/ml en PBS, pH 7.4) luego se lavó con PBS, se colocó 2 gotas de PBS y se cubrió con una laminilla cubreobjetos. Finalmente se examinó bajo el microscopio de fluorescencia con filtro azul ($\lambda = 500$ nm) usando el objetivo de 40X para contabilizar células y 100x para confirmar micronucleos y anormalidades nucleares. Se contabilizó 1000 células por cada lámina.



Células epiteliales bucales. Tinción con naranja de acridina (1mg/ml). a) Célula normal, b) Micronúcleo, c) Gemación, d) Binucleación. Microscopio binocular de fluorescencia Mca. Meiji Techno MT600. Filtro Azul de 500 nm, objetivo planacromático 100x/1.25 oil. Imágenes propias.



Células epiteliales bucales. Tinción con naranja de acridina (1mg/ml). e) Picnósis, f) Cromatina condensada, g) Cariorrexis, h) Cariolisis. Microscopio binocular de fluorescencia Mca. Meiji Techno MT600. Filtro Azul de 500 nm, objetivo planacromático 100x/1.25 oil. Imágenes propias.



Determinación de formaldehído en aire - Método espectrofotométrico mediante la sal disódica del ácido 4,5-dihidroxinaftaleno 2,7-disulfónico (ácido cromotrópico)

MTA/MA-018/A89

PRESENTACIÓN

La utilización de resinas urea-formol y fenol-formol en lacas, pinturas, barnices colas y adhesivos, así como en resinas de aislamiento termoacústico, resinas para la realización de moldes de fundición, etc., hacen que el formaldehído, compuesto sospechoso de ser cancerígeno, se encuentre presente en muchos y variados ambientes laborales. Por este motivo, es interesante disponer de un método ensayado que posibilite su evaluación de forma individualizada.

El método "*Determinación de formaldehído en aire-Método espectrofotométrico mediante la sal disódica del ácido 4-5 dihidroxinaftaleno 2-7 disulfónico (ácido cromotrópico)*", es un **METODO ACEPTADO** por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). Como MÉTODO ACEPTADO se entiende: un método utilizado en el INSHT y que ha sido sometido a un protocolo de validación por organizaciones oficiales competentes en el área de la normalización de métodos analíticos, o bien, ha sido aceptado como método recomendado por asociaciones profesionales dedicadas al estudio y evaluación de riesgos por agentes químicos; así como, aquellos métodos recomendados por la UE o basados en métodos ampliamente conocidos y utilizados por especialistas en este tipo de análisis.

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Se describe en este método el procedimiento a seguir y el equipo necesario para la determinación de formaldehído (Nº CAS 50-00-0) por espectrofotometría, en un intervalo de concentraciones ambientales comprendidas entre 0,1 ppm y 2,0 ppm respectivamente. Esto representa la posibilidad de evaluar muestras cuya concentración esté comprendida entre 0,1 mg y 2 mg por mililitro de disolución captadora.

La sensibilidad para una muestra de 0,1 ppm determinada en 25 l de aire y analizada sobre una alícuota de 4 ml, de los 20 ml que componen la disolución absorbente es de 0,05 unidades de absorbancia respecto al blanco. (9.2). Este método presenta muy pocas interferencias por la presencia de otros aldehídos. Así los aldehídos saturados dan una interferencia positiva menor que 0,01% (m/m). La presencia del aldehído insaturado acroleína presenta una interferencia que origina un pequeño incremento positivo.

La presencia de etanol, alcoholes de elevado peso molecular y olefinas en la muestra, originan resultados con incrementos negativos.

2. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El fundamento del método, consiste en la captación del formaldehído mediante una disolución acuosa de sulfito sódico al 1% (m/m) y su posterior reacción con los ácidos cromotrópico y sulfúrico concentrado. Esto da lugar a la formación de un complejo que presenta su máximo de absorción de radiación electromagnética, en la zona del visible (580 nm).

3. REACTIVOS Y PRODUCTOS

Todos los reactivos utilizados deben tener como mínimo, la especificación "para análisis" y el agua debe ser desionizada.

3.1. Ácido sulfúrico (d = 1,84)

NOTA: SUSTANCIA CORROSIVA (USAR DISPENSADOR). Frases (R): 35. Frases (S): 2-26-30. Real Decreto 2216/1985 (1) (9.3)

3.2. Sal disódica del ácido 4-5 dihidroxinaftaleno 2-7 disulfónico (ácido cromotrópico)

3.3. Sulfito sódico anhidro

3.4. Hidrógeno sulfito formaldehído sódico

3.5. Disolución captadora, de sulfito sódico al 1% (m/m).

Disolver un gramo de sulfito sódico anhidro en 100 ml de agua desionizada. Se prepara esta disolución momentos antes de la toma de muestra.

3.6. Disolución de ácido cromotrópico al 1% (m/m).

Se disuelven 0,1 g de ácido cromotrópico en 10 ml de agua desionizada. Esta disolución se debe preparar semanalmente.

3.7. Disolución patrón de formaldehído (1 mg/ml).

Disolver 4,4703 g de bisulfito formaldehído sódico en agua desionizada y diluir a un litro en matraz aforado. Esta disolución permanece estable durante tres meses, siempre que se mantenga en frasco de color topacio y a una temperatura entre 2 y 5 °C.

3.8. Disolución de trabajo de formaldehído (10 µg/ml).

Diluir un mililitro de disolución patrón (3.7) a 100 ml con agua desionizada en matraz aforado. Esta disolución es estable durante 24 horas guardada a una temperatura entre 2 y 5 °C.

4. APARATOS Y MATERIAL

4.1. Espectrofotómetro o colorímetro capaz de medir la densidad óptica a 580 nm.

4.2. Cubetas de 1 cm de camino óptico.

4.3. Equipo de muestreo: El equipo de muestreo está constituido por tres frascos borboteadores graduados de 30 ml de capacidad. Los dos primeros destinados a contener la disolución absorbente y el tercero vacío como protección de la bomba.

Una bomba capaz de mantener un caudal de aspiración de 1 l/min durante al menos 3 horas. Así mismo se hace necesaria la utilización de un cronómetro.

4.4. Pipetas de 1, 2, 5 y 10 ml.

4.5. Tubos de ensayo de vidrio borosilicatado graduados, provistos de tapón esmerilado y con una capacidad de 25 ml.

5. TOMA DE MUESTRA

5.1. Introducir 20 ml de disolución absorbente de sulfito sódico en los dos primeros frascos borboteadores de la batería de captación (4.3).

5.2. Conectarlos en serie con la bomba de aspiración, utilizando la mínima cantidad posible de tubo, con el fin de reducir en lo posible la pérdida de carga.

La bomba deberá regularse convenientemente a fin de que origine un caudal de aspiración a través de los borboteadores de un litro por minuto.

5.3. El tiempo de muestreo será de una hora lo cual dará lugar al paso de 60 litros de aire a través de la disolución captadora.

5.4. Una vez finalizado el muestreo se procederá al transporte de las muestras al laboratorio. Para ello se pueden utilizar los mismos frascos borboteadores procediendo a su sellado con parafilm, teflón u otro medio que no contenga goma.

5.5. Una de las baterías considerada como blanco será manipulada de idéntica forma, con la única variación de no someterla al paso del aire.

5.6. Las muestras pueden almacenarse hasta 14 días a temperatura ambiente (véase tabla 2 del Anexo A).

6. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

6.1. Limpieza de material

Se debe limpiar todo el material de vidrio con una disolución saturada de dicromato potásico en ácido sulfúrico concentrado, lavando a continuación con abundante agua y finalmente con agua desionizada. El secado del material puede realizarse en estufa con circulación de aire forzada. No se debe calentar el material de vidrio calibrado.

6.2. Preparación de las muestras

6.2.1. Se transfiere el contenido de cada borboteador a un tubo o matraz calibrado, anotando su volumen.

6.2.2. Se toma una alícuota de 4 ml de cada muestra introduciéndolas en tubos de ensayo graduados de 25 ml. De igual manera procederemos con el blanco. En aquellos casos en que el contenido de formaldehído obtenido mediante el análisis sobrepase el límite superior del intervalo lineal del método, se deberá reducir el volumen de la alícuota tomada, diluyendo a 4 ml con agua desionizada y anotando el volumen de muestra.

6.2.3. Se añade un volumen de 0,1 ml de disolución de ácido cromotrópico (3.6) a cada uno de los tubos.

6.2.4. Se añade mediante dispensador, 6 ml de ácido sulfúrico (3.1) a cada uno de los tubos.

NOTA: MEDIDA DE SEGURIDAD

La adición de ácido sulfúrico concentrado debe efectuarse lentamente, orientando la boca del tubo en una dirección que no presente riesgo en caso de producirse proyecciones.

6.2.5. Una vez alcanzada la temperatura ambiente, someter a vacío a las muestras y blanco en el propio tubo de preparación, con el fin de eliminar el anhídrido sulfuroso desprendido. Esta operación se suspenderá cuando la superficie líquida de la muestra no presente una acumulación de burbujas. Esta medida evita errores en la lectura espectrofotométrica.

6.3. Preparación de patrones y curva de calibración

6.3.1. Se añade 0; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1 y 2 ml de disolución de trabajo (3.8) en sendos tubos de ensayo (4.5).

6.3.2. Se diluye el contenido de cada tubo a 4 ml con agua desionizada.

6.3.3. Se continúa según el proceso descrito a partir de 6.2.3. inclusive.

6.3.4. Se efectúa la lectura espectrofotométrica a 580 nm, utilizando como referencia el patrón que contiene cero mililitros de disolución de trabajo. Representar los valores de densidad óptica obtenidos, frente a las concentraciones de formaldehído en µg/muestra.

6.4. Determinación espectrofotométrica

Se mide la densidad óptica de las muestras y blanco. Los valores resultantes se interpolan en la curva de calibrado, obteniéndose la concentración de formaldehído presente en las alícuotas de cada muestra y del blanco.

7. CÁLCULOS

7.1. Determinación del contenido total de formaldehído expresado en microgramos, presente en la batería de borboteadores.

$$C_t = C_A \times F_A + C_B \times F_B$$

$$C_T = C_t - C_{\text{Blanco}} = C_A \times F_A + C_B \times F_B - (C_{A_0} \times F_{A_0} + C_{B_0} \times F_{B_0})$$

donde:

C_t es el contenido total en microgramos de formaldehído, presentes en la batería.

C_{blanco} es el contenido en microgramos de formaldehído, presentes en el blanco.

C_T es el contenido en microgramos de formaldehído, presentes en la batería una vez descontado el blanco.

C_A y C_B son los contenidos parciales en microgramos de formaldehído, presentes en las alícuotas correspondientes a los borboteadores A y B respectivamente, y obtenidos mediante la curva de calibrado.

C_{A_0} y C_{B_0} son los contenidos parciales en microgramos de formaldehído, presentes en las alícuotas correspondientes a los borboteadores A_0 y B_0 del blanco

F_A y F_B son los factores de alícuotas y se calculan mediante el cociente entre el volumen total de muestra en cada borboteador y el volumen de alícuota tomado para el análisis, expresado ambos en mililitros.

F_{A_0} y F_{B_0} son los factores de alícuotas correspondientes al blanco.

7.2. La concentración de formaldehído presente en el aire muestreado expresada en miligramos por metro cúbico, se calcula a partir de la siguiente ecuación.

$$C_{\text{aire}} = \frac{C_T}{V_o}$$

donde:

C_{aire} es la concentración de formaldehído en el aire muestreado en mg/m³.

V_o es el volumen de aire muestreado en m³.

La concentración de formaldehído en aire, expresada en ppm se calcula por medio de la siguiente expresión:

$$C_{\text{ppm}} = C_{\text{aire}} \frac{V_M}{M} \times \frac{101,3}{P} \times \frac{t + 273,15}{293,15} = C_{\text{aire}} \frac{24,05}{30,03} \times \frac{101,3}{P} \times \frac{t + 273,15}{293,15}$$

donde:

V_M es el volumen molar del formaldehído en condiciones normales. Es decir microlitro por micromol.

M es el peso molecular del formaldehído en g/mol

P es la presión del aire muestreado en kPa (10³N/m²)

t es la temperatura del aire muestreado en °C.

8. PRECISIÓN

El coeficiente de variación del método calculado a partir de los datos intralaboratorio de muestras captadas en atmósferas de concentraciones de formaldehído conocidas, es inferior al 6 % en todo el intervalo de aplicación del método (9.1). (Véase tabla 1 del Anexo A).

9. BIBLIOGRAFÍA

1. B. Uribe y J. E. Dolara. Generación y Evaluación de bajas concentraciones de formaldehído. X Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad del Trabajo. Granada. Noviembre 1984.
2. National Institute for Occupational Safety and Health Method P CAM 125. Manual of Analytical Methods, Second Edition. Vol. 1. DHEW (NIOSH). Publication 77-157-A (1977).
3. Real Decreto 2216/1985 (1) de 23. 10. (Presid., BB.OO.E. 27.11.85, rect. 9.5.86). "Reglamento sobre declaración de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas", modificado por: Real Decreto 725/1988 de 3.6. (Minist. Rel. Cortes BB.OO.E. 9.7.88, rect. 4.8.88) y Orden 7.9.1988, (Minist. Rel. Cortes B.O.E. 13.9.88).

Para cualquier observación o sugerencia en relación con este Método puede dirigirse al **Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo** Centro Nacional de Verificación de Maquinaria Camino de la Dinamita, s/n Monte Basatxu-Cruces - 48903 BARACALDO (VIZCAYA) Tfn. 944 990 211 - 944 990 543 Fax 944 990 678 Correo electrónico.- cnvminsht@mtas.es

ANEXO 19

INFORME DE RESULTADOS DEL FORMALDEHÍDO EN AIRE



INFORME DE ENSAYO N° 1805-01-2014

Solicitante: Cesar Rivera Orcoapaza
 Dirección: Jr. Antonio Miroqueza 113, Dpto. 311 - Cercado de Lima
 Procedencia de la muestra: INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS -INEN
 Tipo de Matriz: Aire
 Plan de Muestreo: Referencia: Plan de Muestreo N°1805, Procedimiento PR-MUE Item 3.1.5
 Solicitud de Ensayo: 1805
 Fecha de Recepción de la muestra: 29.04.14
 Fecha de Ejecución del ensayo: 29.04.14
 Fecha de Muestreo: 29.04.14
 Responsable de Muestreo: Personal de Laboratorios Analíticos JyR S.A.C.

Código de Laboratorio	Descripción del Punto de Muestreo	mg/m ³
		Formaldehído (1 hora)
A4-0161	Área de Patología	1,466

Referencia de Métodos de Ensayo:
 Formaldehído: Determinación de Formaldehído en aire - Método espectrofotométrico mediante ácido cromotrópico- Método de laboratorio- PR-CA-007 Año 2012.
 PR-CA: Procedimiento de Calidad de Aire

Condición y Estado de la Muestra Ensayada: La muestra para el ensayo de formaldehído fue recepcionada en solución captadora.
 El tiempo de monitoreo es indicado por parámetro.


 Quím. ROSARIO ROQUE
 C.Q.P. 820
 Jefe de Laboratorio
 Laboratorios Analíticos JyR S.A.C.

Lima, 08 de Mayo del 2014

Prohibida su reproducción parcial o total sin la autorización del Gerente General - LABORATORIOS ANALÍTICOS JYR S.A.C. Los resultados obtenidos se refieren solamente a las muestras entregadas.
 Los resultados de los ensayos obtenidos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
 El tiempo de custodia de la muestra es de acuerdo al parámetro y método por el cual se a analizado.

Código: PMNL
 Versión: 01
 Fecha: 02-06-11

Av. Conquistadores 850 - San Isidro
 Telf. 440-0345 RPM #97679-2222 RPC 98794-6413 98932-0083
 e-mail: atc@labanjyr.com - admcalab@labanjyr.com - www.labanjyr.com

Pág. 1 de 3

**INFORME DE ENSAYO
N° 1805-01-2014**

Solicitante: Cesar Rivera Orcoapaza
Dirección: Jr. Antonio Miroqueza 113, Dpto. 311 - Cercado de Lima
Procedencia de la muestra: HOSPITAL NACIONAL GUILLERMO ALMENARA IRIGOYEN- ESSALUD
Tipo de Matriz: Aire
Plan de Muestreo: Referencia: Plan de Muestreo N°1805, Procedimiento PR-MUE Item 3.1.5
Solicitud de Ensayo: 1805
Fecha de Recepción de la muestra: 30.04.14
Fecha de Ejecución del ensayo: 30.04.14
Fecha de Muestreo: 30.04.14
Responsable de Muestreo: Personal de Laboratorios Analíticos JyR S.A.C.

Código de Laboratorio	Descripción del Punto de Muestreo	mg/m ³
		Formaldehído (1 hora)
A4-0165	Área de patología	1,114

Referencia de Métodos de Ensayo:

Formaldehído: Determinación de Formaldehído en aire - Método espectrofotométrico mediante ácido cromotrópico- Método de laboratorio- PR-CA-007 Año 2012.
PR-CA: Procedimiento de Calidad de Aire

Condición y Estado de la Muestra Ensayada: Las muestras para los ensayos de formaldehído fueron recepcionados en soluciones captadoras.
El tiempo de monitoreo es indicado por parámetro.


Quim. ROSARIO ROCA E.
C.Q.P. 820
Jefe de Laboratorio
Laboratorios Analíticos JyR S.A.C.

Lima, 08 de Mayo del 2014

Prohibida su reproducción parcial o total sin la autorización del Gerente General- LABORATORIOS ANALITICOS JYR S.A.C. Los resultados obtenidos se refieren solamente a las muestras ensayadas.
Los resultados de los ensayos obtenidos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
El tiempo de custodia de la muestra es de acuerdo al parámetro y método por el cual se a analizado.

Control: P.M.-RL
Versión: 05
Fecha: 02-06-11

Av. Conquistadores 850 - San Isidro
Telf. 440-0345 RPM #97679-2222 RPC 98794-6413 98932-0083
e-mail: atc@labanjyr.com - admcalab@labanjyr.com - www.labanjyr.com

Pág. 2 de 3

**INFORME DE ENSAYO
N° 1805-01-2014**

Solicitante: Cesar Rivera Orcoapaza
Dirección: Jr. Antonio Miroqueza 113, Dpto. 311 - Cercado de Lima
Procedencia de la muestra: **MORGUE CENTRAL DE LIMA**
Tipo de Matriz: Aire
Plan de Muestreo: Referencia: Plan de Muestreo N°1805, Procedimiento PR-MUE Item 3.1.5
Solicitud de Ensayo: 1805
Fecha de Recepción de la muestra: 30.04.14
Fecha de Ejecución del ensayo: 30.04.14
Fecha de Muestreo: 30.04.14
Responsable de Muestreo: Personal de Laboratorios Analíticos JyR S.A.C.

Código de Laboratorio	Descripción del Punto de Muestreo	mg/m ³
		Formaldehído (1 hora)
A4-0163	Área de patología	0,311

Referencia de Métodos de Ensayo:

Formaldehído; Determinación de Formaldehído en aire - Método espectrofotométrico mediante ácido cromotrópico- Método de laboratorio- PR-CA-007 Año 2012.
PR-CA: Procedimiento de Calidad de Aire

Condición y Estado de la Muestra Ensayada: Las muestras para los ensayos de formaldehído fue recepcionados en soluciones captadoras.
El tiempo de monitoreo es indicado por parametro.


Quím. ROSARIO ROCA E.
C.O.P. 820
Jefe de Laboratorio
Laboratorios Analíticos JyR S.A.C.

Lima, 08 de Mayo del 2014

Prohibida su reproducción parcial o total sin la autorización del Gerente General - LABORATORIOS ANALITICOS JYR S.A.C. Los resultados obtenidos se refieren solamente a las muestras ensayadas.
Los resultados de los ensayos obtenidos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
El tiempo de cobro de la muestra es de acuerdo al parametro y método por el cual se a ensayado.

Código PM-NE
Versión 09
Fecha: 02-05-11

Av. Conquistadores 850 - San Isidro
Telf. 440-0345 RPM #97679-2222 RPC 98794-6413 98932-0083
e-mail: atc@labanjyr.com - admcalab@labanjyr.com - www.labanjyr.com

Pág. 2 de 3



Área de macroscopía - Laboratorio de anatomía patológica de la Morgue Central de Lima. Lima, 29 de abril de 2014



Área de macroscopía - Laboratorio de anatomía patológica del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Lima, 30 de abril de 2014

ANEXO 20



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA
EAP TECNOLOGÍA MÉDICA
ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**



CONSENTIMIENTO INFORMADO

**DETERMINACION DEL DAÑO GENOTOXICO POR EXPOSICION OCUPACIONAL A
FORMALDEHIDO EN TRABAJADORES DE LABORATORIOS DE ANATOMIA
PATOLOGICA DE LIMA METROPOLITANA**

Equipo de investigadores:

- *Bach. Cesar Rivera Orcoapaza - UNMSM*
- *Mg. Jaime Alonso Rosales Rimache, Tecnólogo Médico del CENSOPAS/INS*

Información:

El formaldehído es un compuesto químico usado ampliamente en los servicios de salud, especialmente dentro de los laboratorios de anatomía patológica, donde es empleado con fines de preservación. La OMS ha clasificado al formaldehído como agente cancerígeno en humanos, basado en estudios que encuentran relación con el desarrollo de algunos tipos de cáncer; por ello la exposición ocupacional a éste compuesto representa un potencial riesgo para la salud de las personas que trabajan dentro de estos servicios

Se ha determinado que el área donde Ud. labora se encuentra expuesta a vapores de formaldehído que podría estar inhalando; para confirmar este hecho y determinar si Ud. presenta riesgo genético que pudiera causarle alguna enfermedad crónica; solicitamos su participación en este estudio. Con ello Ud. contribuirá al conocimiento sobre el efecto dañino del agente y permitirá que se diagnostique oportunamente cualquier alteración en su salud.

Participación, Procedimientos y Riesgos:

Su participación en este estudio es absolutamente voluntaria, anónima y sin costo alguno. Si Ud. acepta participar:

- 1. Está garantizada toda la información que Ud. quiera saber.*
- 2. Responderá un breve cuestionario relacionado a exposición ocupacional, hábitos de consumo y antecedentes médico-familiares (tiempo aproximado 5 minutos).*
- 3. Se colectará, bajo condiciones estériles, 3 gotas de sangre del pulpejo del dedo anular en tubos capilares. Esta muestra servirá únicamente para la realización de pruebas de genotoxicidad en el laboratorio (ensayo cometa). Durante la toma de muestra sentirá un malestar mínimo, como una picada de insecto. Después de la toma puede ocurrir eventualmente la formación de equimosis o hematomas, esto no representa riesgos a la salud, excepto quizás dolor en la zona de punción.*

4. Se colectará una muestra de células epiteliales bucales, a través de un suave raspado con un hisopo estéril en las mejillas internas de la boca, lo cual no te generará malestar alguno. Esta muestra servirá para la realización del test de micronúcleos.
5. Los resultados serán entregados de forma individual por el autor del proyecto, con las recomendaciones indicadas.

Beneficios:

Se te informará de tu estado de salud con respecto a la exposición por formaldehído y se te explicará los resultados y las recomendaciones.

Compensación:

Mi participación en la investigación es voluntaria, no incurriré en costos personales ni recibiré ningún tipo de asistencia financiera, resarcimiento o indemnización por esta participación.

Confidencialidad de la información:

Estoy consciente que los resultados obtenidos en esta investigación serán empleados en publicaciones científicas, de forma que se conserve la confidencialidad de mis datos.

Problemas o preguntas:

En caso surja algún problema, pregunta, o algún daño relacionado con la investigación, podré contactar a los investigadores responsables: Bach. Cesar Rivera Orcoapaza y Jaime Rosales Rimache, Tecnólogo médico del CENSOPAS/INS.

Dirección para contacto: CENSOPAS, Calle Las Amapolas, 350, Lince, Lima. Teléfono (01)617 6200 anexo 7706, email: cesar_rivera_02@hotmail.com / jrosales@ins.gob.pe

Consentimiento /Participación voluntaria:

Yo

Después de haberme informado en detalle del estudio, doy mi consentimiento de forma voluntaria para participar en esta investigación y que la información pueda ser usada con fines de investigación.

Lima, ____ de _____ del 2014

Firma del participante

ANEXO 21

ALGUNOS EQUIPOS DE LABORATORIO EMPLEADOS EN EL ESTUDIO

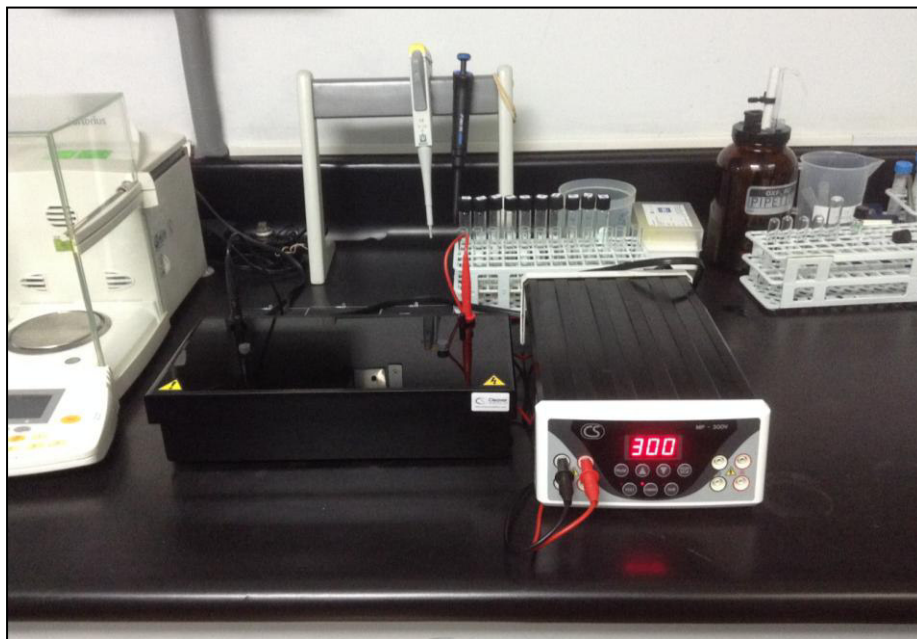


Imagen superior: balanza analítica, cámara electroforética, fuente de poder.
Imagen inferior: microscopio de fluorescencia, computadora con el software Comet Assay IV - Laboratorio de Toxicogenética del CENSOPAS-INS